

Utvikling av en farmakokinetisk populasjonsmodell for Advagraf® i nyretransplanterte pasienter

Naz Isabella Lilan



Mastergradsoppgave i farmasi

Avdeling for farmasøytisk biovitenskap
Farmasøytisk institutt
Det matematisk-naturvitenskapelige fakultet

UNIVERSITETET I OSLO

15.mai 2011

Utvikling av en farmakokinetisk populasjonsmodell for Advagraf® i nyretransplanterte pasienter

Naz Isabella Lilan



Mastergradsoppgave i farmasi

Avdeling for farmasøytisk biovitenskap
Farmasøytisk institutt
Det matematisk-naturvitenskapelige fakultet

UNIVERSITETET I OSLO

15.mai 2011

Veileder
Professor Anders Åsberg

FORORD

Denne oppgaven er utført under veiledning av professor Anders Åsberg ved Avdeling for farmasøytisk biovitenskap, Farmasøytisk institutt, Universitet i Oslo i perioden høst 2010 til vår 2011.

Jeg vil rette en stor takk til Anders Åsberg for svært god oppfølging, rådgivning, veiledning og støtte gjennom hele masteroppgaven. Tusen takk for all din hjelp med NONMEM og god motivasjon hver gang jeg satt fast med NONMEM. Jeg vil også takke medstudenten Stine B. Tallaksen for å ha besvart små og store spørsmål og for å ha hjulpet meg hver gang jeg var oppgitt over NONMEM. Jeg vil gjerne takke hele 4. etasje og medstudenter for hygge og latter som har bidratt til et hyggelig arbeidsmiljø.

Jeg vil takke min familie som hele tiden har støttet og motivert meg.

Jeg vil takke min kjære Christian for alltid å ha vært der for meg og motivert meg. Takk for korrekturlesing og grammatikk retting. Takk for all din støtte og kjærighet du har gitt meg.

Blindern, mai 2011

Naz Isabella Lilan

INNHOLDSFORTEGNELSE

FORORD.....	3
INNHOLDSFORTEGNELSE.....	4
FORKORTELSER.....	7
 SAMMENDRAG	 9
Bakgrunn.....	9
Metode	9
Resultater	9
Konklusjon	10
 1 INNLEDNING	 11
1.1 POPULASJONSFARMAKOKINETIKK	11
1.1.1 Innledning.....	11
1.2 MODELLERINGSMETODER	12
1.2.1 Nonlinear mixed-effect metode.....	12
1.2.2 Maksimum sannsynlighetsmetode (Maximum likelihood approach)	13
1.3 NONMEM	13
1.3.1 "Fixed effects" i NONMEM	14
1.3.2 "Random effects" i NONMEM	14
1.3.3 "Maximum likelihood" estimering.....	15
1.4 TACROLIMUS.....	15
1.4.1 Virkningsmekanisme.....	16
1.4.2 Absorpsjon.....	16
1.4.3 Distribusjon	16
1.4.4 Metabolisme/Ekskresjon	16
1.4.5 Farmakokinetisk populasjonsmodell av Advagraf® i litteraturen	17
1.5 MÅL.....	17
 2 METODER OG MATERIALER	 18
2.1 PASIENTER	18
2.2 STUDIE DESIGN OG METODER.....	20

2.3 TACROLIMUS ANALYSE	20
2.4 POPULASJONSMODELL OPPBYGGING	21
2.5 KOVARIATFRI MODELL	21
2.6 KOVARIAT ANALYSER.....	22
2.7 KRITERIE FOR VALG AV MODELL.....	24
2.8 VALIDERING AV SLUTTMODELL	25
2.8.1 INTERN VALIDERING	25
2.8.1.1 Jackknife metode.....	25
2.8.1.2 Data-splitting metode.....	25
2.8.1.2 Prediktiv prestasjon (predictive performance).....	27
2.9 STATISTIKK OG BEREGNINGER	28
 3 RESULTATER.....	 29
3.1 RESULTATER FRA MODELL OPPBYGGING.....	29
3.2 KOVARIAT ANALYSER.....	32
3.2.1 Kovariat analyser basert på grafisk presentasjon	36
3.2.2 Sluttmodell for Advagraf®.....	38
3.3 VALIDERING AV SLUTTMODELL	41
3.3.1 INTERN VALIDERING	41
3.3.1.2 Jackknife metode.....	41
3.3.1.2 Data-splitting metode.....	42
3.3.1.4 Prediktiv prestasjon (predictive performance).....	45
 4 DISKUSJON.....	 47
4.1 POPULASJONSMODELL OPPBYGGING	47
4.2 KOVARIATFRI MODELL	47
4.3 KOVARIAT ANALYSER.....	48
4.4 VALIDERING AV SLUTTMODELL	51
4.4.1 INTERN VALIDERING	51
4.4.1.1 Jackknife metode.....	51
4.4.1.2 Data-splitting metode.....	51
4.4.1.3 Prediktiv prestasjon (Predictive performance).....	52
 5 KONKLUSJON.....	 53
6 REFERANSER.....	54

7. VEDLEGG	58
7.1 Inputfil for oppbygging av populasjonsmodell.....	58
7.2 INDIVIDUELL TILPASNING	65
7.2.1 Individuell tilpasning i den endelige farmakokinetiske modellen.....	65
7.3 KONTROLLFILER FOR NONMEM	68
7.3.1 Kontrollfil for en-kompartiment modell med første ordens absorpsjon og lag-tid	68
7.3.2 Kontrollfil for tre-kompartiment modell med første ordens absorpsjon og lag-tid.....	69
7.3.3 kontrollfil for to-kompartiment modell med Erlang distribusjon.....	71
7.4 JACKKNIFE RESULTATER	73
7.5 Prediktiv prestasjon	75
7.6 GOF PLOTTER	79

FORKORTELSER

NONMEM	”Nonlinear mixed effekt” model
NM-TRAN	NONMEM translator
OFV	”Objective function value”
Δ OFV	Differense i OFV
Df	Degree of freedom
TDM	Terapeutisk legemiddel monitorering
NODAT	”New Onset Diabetes After Transplantation”
REK	Regionale komiteer for medisinsk og helsefaglig forskningsetikk
-2LL	Minus to log likelihood
IL-2	Interleukin 2
IL-3	Interleukin 3
INF_γ	Gamma-interferon
FKBP12	FK bindingsprotein 12
C_{max}	Maksimum konsentrasjon av legemiddelet
C_0	Konsentrasjon ved tid 0
C_1	Konsentrasjon ved tid 1 (time) etter legemiddel inntak
C_3	Konsentrasjon ved tid 3 (timer) etter legemiddel inntak
C_{pred}	Predikert konsentrasjon
C_{obs}	Observert konsentrasjon
TXT	Tid etter post-transplantasjon
STER	Steroid dose
MDV	Missing dependent variable
SS	”Steady state”
WT	Vekt
II	Dose interval

BMI	Body mass index
GFR	Glomerular filtration rate (for måling av nyrefunksjon)
PCR	Plasma kreatinin
GEN	Gender (kjønn)
Hct	Hematokritt
Hb	Hemoglobin
CMT	Kompartiment modell
AMT	Adminstreringsdose av legemiddelet
IPRED	Individuell predikert konsentrasjon
PRED	Populasjonspredikert konsentrasjon
OBS	Observerert konsentrasjon
GOF	”Goodness of fit”
WRES	“Weighted residual error”
Mean	Gjennomsnittsverdi
SD	Standardavvik
SE	Standardfeil
CI	Konfidensintervall
ME	Gjennomsnittlig prediksjonsfeil (mean prediction error)
MSE	”Mean squared prediction error”
RMSE	“Root mean squared prediction error”
SPE	Standardisert prediksjonsfeil (Standardized prediction error)
SD $SPE_{C_{pred}}$	Standardavvik for SPE fra individuell predikert konsentrasjon
CL/F	Clearance
V_1/F	Sentral volum
Q/F	Interkompartimental clearance
V_2/F	Periferal volum
K_A	Absorpsjonshastighet konstant

SAMMENDRAG

Bakgrunn

Advagraf® er en ny formulering, med forlenget frigjøring av tacrolimus, som administreres 1 gang daglig. Advagraf® er potent immunosuppresiv som er brukt i nyretransplantasjon. Tacrolimus har stor interindividuell og intraindividuell farmakokinetisk variasjon, og lav terapeutisk vindu. Konsentrasjoner over det terapeutiske vinduet kan gi alvorlige bivirkninger, mens konsentrasjoner under det terapeutiske vinduet kan føre til terapeutisk svikt (organ avstøting). Derfor er det nødvendig med terapeutisk legemiddel monitorering av tacrolimus.

Hovedmålet var å utvikle en farmakokinetisk populasjonsmodell for Advagraf®, for å kvantifisere farmakokinetiske parameter estimer og forklare interindividuell og intraindividuell variasjon av tacrolimus i populasjonen. Spesifikke mål var å teste forskjellige strukturelle modeller med forskjellige absorpsjonsprofiler, finne signifikante kovariater som kan forklare interindividuell og intraindividuell variasjon i farmakokinetiske parametere, og validere den endelige modellen.

Metode

Data fra 20 stabile nyretransplanterte pasienter i en crossover studie gjennomført ved Oslo universitetssykehus Rikshospitalet, ble samlet. Pasientene var først behandlet med Prograf® (tacrolimus 2 ganger daglig formulering) i en periode, så ble pasientene konvertert og behandlet med Advagraf®. Total 220 plasma konsentrasjoner (blodprøver) ble brukt til å utvikle en farmakokinetisk populasjonsmodell. Populasjonsmodellen ble utviklet ved å bruke NONMEM.

Forskjellige strukturelle modeller og forskjellige absorpsjonsprofiler ble testet for å finne den modellen som best beskriver dataene i populasjonen. Kovariater ble testet på den tradisjonelle måten og signifikante kovariater ble inkludert i populasjonsmodellen. Til slutt ble den endelige modellen validert med intern metode.

Resultater

To-kompartiment modell med første ordens absorpsjon og lag-tid, var funnet å beskrive de farmakokinetiske dataene best. Blant de kvoariatene som ble testet, viste kjønn signifikant

effekt på K_A , og ble inkludert i sluttmodellen. Intern valideringen av den endelige modellen ble utført, og modellen viste ikke tegn til robusthet. Manglende robusthet førte til at farmakokinetiske parametere ble ustabile.

Konklusjon

To-kompartiment modell med første ordens absorpsjon med lag-tid, og kjønn som kovariat på K_A , beskrev dataene fra populasjonen best. Men få antall pasienter (og blodprøver) ga ikke grunnlag for utvikling av en modell som kunne brukes til å kvantifisere farmakokinetiske parameter estimer, og forklare interindividuell og intraindividuell variasjon av tacrolimus i populasjonen.

1 INNLEDNING

1.1 POPULASJONSFARMAKOKINETIKK

1.1.1 Innledning

Populasjonsfarmakokinetikk er studie for å samle relevant farmakokinetisk informasjon fra representative pasienter der legemiddelet blir brukt klinisk, i motsetning til tradisjonelle farmakokinetiske analyser [11, 12, 42].

Populasjonsfarmakokinetikk metode benyttes for å kvantifisere avgjørende faktorer (farmakokinetiske parametere, interindividuell og residual variasjon) for legemiddel konsentrasjoner i en populasjon av pasienter. Det vil si at alle typer variasjoner, inkludert interindividuell (biologisk variasjon), intraindividuell (forskjell mellom IPRED og OBS), interokkasjonell (dag til dag, uke til uke variasjon) og tilfeldige variasjoner, må indentifiseres, forklares og kvantifiseres. For å vurdere om variasjonene er klinisk relevante, må målbare faktorer som er assosiert med endringer i forholdene mellom dose, konsentrasjon, respons og patofysiologi identifiseres. Når nødvendig farmakokinetisk informasjon er samlet, kan doseringen endres hensiktsmessig og øke legemiddelets sikkerhet og effekt [9, 12, 16, 38].

Populasjonsfarmakokinetikk brukes ofte til utvikling av et legemiddel, for å optimalisere individets doseringsregime av legemiddelet, kvantifisere farmakokinetiske parameter estimer og forklare interindividuell og intraindividuell variasjon av legemiddelet i populasjonen (som er tilfellet i denne oppgaven). Populasjonsfarmakokinetikk er mye brukt i arbeid med legemidler som har lav terapeutisk vindu og viser store farmakokinetiske variasjoner.

1.2 MODELLERINGSMETODER

Det finnes flere metoder for å estimere parametere i populasjonsfarmakokinetikk; parametriske og ikke-parametriske metoder.

Parameteriske metoder skiller mellom interindividuell, intraindividuell og analysefeil, og har kontinuerlig parameter distribusjon der distribusjonen er antatt å være enten normal eller lognormal. Disse metodene estimerer gjennomsnittsverdien og standardavviket av parametere, og korrelasjoner mellom dem. En svakhet ved parametriske metoder er at de generelt mangler matematisk samsvar, og parameter distribusjonen er basert på antagelser [10, 29].

Ikke-parametriske metoder bruker ikke forutsetninger for å bestemme formen av parameter distribusjonen, dermed brukes verken gjennomsnittsverdien eller standardavviket til å beskrive distribusjonen av parametere. Formen av distribusjon i ikke-parameteriske metoder, er bestemt fra populasjonsdata istedenfor å anta (som gjøres i parametriske metoder). Derfor er de matematisk samsvarlig, men skiller ikke mellom de ulike kildene til variabilitet [10].

De to mest vanlige parametriske metodene for å utføre populasjonsfarmakokinetiske analyser, er beskrevet nedenfor; ”nonlinear mixed-effect” metode og ”Maximum likelihood” metode.

1.2.1 ”Nonlinear mixed-effect” metode

”Nonlinear mixed-effect” metode bruker data fra populasjonen fremfor data fra enkelte pasienter for å estimere parameter distribusjon, og estimere korrelasjoner og kovarianser mellom dem. Denne metoden er første populasjonsmodellering program, og består av kun ett trinn siden alle data fra enkelte pasienter analyseres på en gang. Data per pasient som er brukt i denne metoden er vanligvis av begrenset antall, og samlet under mindre restriktive forhold [12].

Fordeler av ”nonlinear mixed-effect” metode er at den finner det beste settet med parametere, og det kan utføres testing av kovariater. Ulempene er at den er vanskelig å gjennomføre og tar lang tid å teste.

1.2.2 Maksimum sannsynlighetsmetode (Maximum likelihood approach)

Denne metoden er ofte brukt til å estimere parametere i en farmakokinetisk modell ved å minimalisere -2LL, likning er vist nedenfor:

$$-2 \log(L) = n \log(2\pi) + \sum_{i=1}^n (\log(\sigma_i^2) + \frac{(Y_i - \hat{Y}_i)^2}{\sigma_i^2}) \quad (1)$$

- hvor Y er observerte målinger, \hat{Y} er prediksjonsverdi som er predikert av modellen, σ^2 er varians av modellen. Første delen av likningen $n \log(2\pi)$ er konstant, og kan ikke minimaliseres. I andre delen av likningen $\sum_{i=1}^n (\log(\sigma_i^2) + \frac{(Y_i - \hat{Y}_i)^2}{\sigma_i^2})$ kan minimaliseringen gjøres. Den andre delen kalles også "extended least squares" objektiv funksjon (*objective function*), og OFV beregnes fra denne delen av likningen [4, 26].

"Maximum likelihood" metode er brukt til å finne parametere som maksimerer sannsynligheten av dataene i modellen, og det kan gjøres ved å minimalisere -2LL [4, 28].

Denne metoden brukes vanligvis til å teste statistisk signifikans for to eller flere modeller, og blir automatisk beregnet i NONMEM, som OFV verdi. Se avsnitt 1.3.

1.3 NONMEM

NONMEM var den første "nonlinear mixed-effect" regresjon modell som ble foreslått av Sheiner et al. i 1972 for å estimere populasjonsfarmakokinetiske parametere. Modellen samler blodprøver (konsentrasjonsmålinger) fra mange pasienter for å estimere gjennomsnittet for populasjonsparametere, og kovariater inkluderes for å kvantifisere interindividuelle og intraindividuelle variasjoner i parametere mellom pasientene. NONMEM er det mest brukte dataprogrammet for populasjonsanalyse [31].

NONMEM er et verktøy for å bygge en matematisk modell, og bruker flere elementer for å utvikle den matematiske modellen for eksperimentelle data. Først bygger NONMEM en strukturell modell som best beskriver dataene i populasjonen, så beskriver NONMEM "random effects", se avsnitt 1.3.2.

1.3.1 "Fixed effects" i NONMEM

Den strukturelle modellen inneholder farmakokinetiske parametere som varierer fra individ til individ i populasjonen. De kjente observerbare egenskapene i individer (kovariater) som forårsaker variasjoner i populasjonsparametere, er kalt "fixed effects". Det vil si at "fixed effects" er påvirkningen av kovariater på populasjonsparametere [26].

1.3.2 "Random effects" i NONMEM

"Random effects" er tilfeldigheter som ikke kan predikeres på forhånd. Distribusjonen av "random effects" estimeres av NONMEM og er normal med et gjennomsnitt på null og en varians.

I biologiske data er det generelt to typer tilfeldige ("random") variasjoner. Den første typen er forskjeller mellom individer, og kalles interindividuell variasjon. Interindividuell variasjon i NONMEM er Eta (η) med varians Omega (ω^2) [26].

Den andre typen kalles intraindividuell variasjon og er forskjell mellom individuell prediksjon av modellen, og observerte målinger. Intraindividuell variasjon i NONMEM er epsilon (ϵ) med en varians sigma (σ^2) [26].

"Random effects" er gjennomført i NONMEM ved å bruke varians modeller. Disse modellene brukes til både interindividuell og intraindividuell variasjon (tabell 1) [26].

Tabell 1: Varians modeller for "random effects" i NONMEM.

Proportional error model (%)	Value = Predicted + Error
Additive error model ($\mu\text{g/L}$)	Value = Predicted * (1+Error)
Log normal model	Value = Predicted * EXP(Error)

1.3.3 "Maximum likelihood" estimering

NONMEM bruker "maximum likelihood" estimering for å beregne OFV. OFV er et verktøy som brukes for å vise at en modell er signifikant bedre enn annen modell. Jo lavere OFV, desto bedre er modellen. NONMEM maksimerer sannsynligheten for parameterne i populasjonen ved å minimalisere -2LL [26].

Likning (1) (avsnitt 1.2.2) er brukt i NONMEM for å beregne OFV, og består av to deler. Første delen ($n \log(2\pi)$) er konstant og kan ikke minimaliseres. Andre delen

$(\sum_{i=1}^n (\log(\sigma_i^2) + \frac{(Y_i - \hat{Y}_i)^2}{\sigma_i^2}))$ minimaliseres i NONMEM, og OFV beregnes [26].

Det er viktig å nevne at lavest OFV ikke nødvendigvis betyr at modellen er beste strukturelle modell. Andre tester må utføres, og den beste strukturelle modellen er den som best beskriver dataene.

1.4 TACROLIMUS

Advagraf® er ny formulering av tacrolimus som administreres 1 gang daglig, den fikk markedsføringsstillatelse for første gang i 2007. Denne nye formuleringen har blitt utviklet for å øke "compliance" hos pasienter [5, 19, 20, 21, 35, 36].

Tacrolimus er et makrolid immunosuppresiv middel som er brukt av transplanterte pasienter. Tacrolimus har samme cellulær mekanisme som cyklosporin (hindre organ avstøting i transplanterte pasienter), men tacrolimus er 10-100 ganger mer potent enn cyklosporin [2, 24]. Det er viktig å nevne at Advagraf® har lav terapeutisk vindu som cyklosporin, og har stor interindividuell og intraindividuell farmakokinetisk variasjon. Derfor er det nødvendig med TDM for hver pasient for å få et godt estimat på systemisk eksponering av Advagraf® [19].

De vanligste bivirkningene som forekommer hos >10% av pasientene som bruker Advagraf® er; tremor, nedsatt nyrefunksjon (nefrotoksisitet), hyperglykemiske tilstander, hyperkalemi, infeksjoner, hypertensjon og insomni (søvnvansker). Bivirkningene er doseavhengige (og blodkonsentrasjonsavhengige) og reversible, unntatt når kronisk nyresvikt er utviklet ved lengre tids bruk [5, 24, 33, 39].

1.4.1 Virkningsmekanisme

Effekten av advagraf® på molekylærnivå ser ut til å være mediert av binding til et cytosolprotein (FKBP12), som er ansvarlig for den intracellulære akkumuleringen av forbindelsen. FKBP12-tacrolimus komplekset binder spesifikt og kompetitivt til og hemmer kalsineurin. Dette fører til en kalsineurinavhengig hemming av signaltransduksjonsveiene i T-cellene, og hindrer dermed transkripsjon av et avgrenset sett av cytokingener. Tacrolimus hemmer aktiveringen av T-celler og T-hjelpeceller som er avhengig av B-celleprofilering, samt dannelsen av lymfokiner (IL-2, IL-3 og INF_γ) og ekspresjon av IL-2 reseptoren [5, 24].

1.4.2 Absorpsjon

Advagraf® absorberes gjennom hele mage-tarmkanalen, og tilgjengelig tacrolimus absorberes vanligvis raskt. Advagraf® er en ny formulering med forlenget frigjøring (depot formulering) av tacrolimus, som fører til en forlenget peroral absorpsjonsprofil. En maksimal konsentrasjon i blodet (C_{max}) oppnås etter gjennomsnittlig to timer. Absorpsjonen varierer fra pasient til pasient og gjennomsnittlig biotilgjengelighet av peroralt tacrolimus er mellom 20-25%. Den perorale biotilgjengeligheten (både hastigheten og absorpsjonsgraden) av Advagraf® blir redusert etter måltid [5, 24, 39].

1.4.3 Distribusjon

I systemisk sirkulasjon bindes tacrolimus (Advagraf®) sterkt til erytrocytter og plasmaproteiner (>98,8%, serumalbumin). Distribusjonsvolumet ved "steady state" basert på fullblodsdata, er gjennomsnittlig 47,6 liter [5, 39].

1.4.4 Metabolisme/Ekskresjon

Tacrolimus metaboliseres i stor grad i leveren via CYP3A5 og CYP3A4, og flere metabolitter av tacrolimus er funnet. Men kun en av metabolittene har vist immunosuppressiv aktivitet *in vitro*, mens de resterende har svakt eller ingen immunosuppressiv aktivitet. Blant de inaktive metabolittene er det kun en som er i systemisk sirkulasjon i lave konsentrasjoner [5, 32, 39].

Tacrolimus har lav clearance, og gjennomsnittlig total clearance fra fullblodskonsentrasjoner på 2,25 liter/time i friske individer. Tacrolimus ekskresjon varierer med hvilke organ det er transplantert i pasienten. Utskilles hovedsaklig via gallen i feces.

Faktorer som gir høyere clearance verdier etter transplantasjon er [24, 39]:

- Lav hematokritt og proteinnivå som øker ubundet fraksjon av tacrolimus.
- Kortikosteroider øker metabolisme (høy clearance verdig), og dermed reduserer blodkonsentrasjonen av tacrolimus i plasma.

1.4.5 Farmakokinetisk populasjonsmodell av Advagraf® i litteraturen

Den nye formuleringen av tacrolimus har ikke vært i bruk lenge, derfor var det få farmakokinetiske populasjonsmodeller som var utviklet for Advagraf®. Tidligere studier brukte to-kompartiment modell med Erlang distribusjon for å beskrive dataene i populasjonen. De rapporterte at Erlang distribusjon (som absorpsjonsprosess) gav bedre tilpasning av dataene i populasjonen enn absorpsjon med lag-tid [19, 20].

1.5 MÅL

Hovedmålet med denne oppgaven var å utvikle en farmakokinetisk populasjonsmodell for Advagraf® ved å bruke NONMEM. De spesifikke målene var:

1. Teste forskjellige strukturelle modeller med forskjellige absorpsjonsprofiler for å finne den farmakokinetiske populasjonsmodellen som best beskriver dataene.
2. Teste kovariater for å finne signifikante kovariater som kan forklare interindividuell og intraindividuell variasjon i farmakokinetiske parametere.
3. Validere den endelige farmakokinetiske populasjonsmodellen, med intern metode.

2 METODER OG MATERIALER

2.1 PASIENTER

I en crossover studie gjennomført ved Oslo universitetssykehus Rikshospitalet, ble det samlet data fra 20 stabile nyretransplanterte pasienter behandlet med Advagraf®. Inklusjons- og eksklusjonskriterier var benyttet for å inkludere de rette pasientene i studien [27].

Inklusjonskriterier:

- Fra 18 år eller eldre med en plasma-kreatinin $<150 \mu\text{mol/L}$,
- Pasienter som ble transplantert i > 6 måneder, og behandlet med tacrolimus,
- Pasienter i en stabil posttransplantasjonsfase og med en prednisolon dose på $\leq 5\text{mg/daglig}$.

Eksklusjonskriterier:

- Leversykdommer, gravide og ustabil organfunksjon (P-kreatinin svingninger på $>20\%$).
- Pasienter med glukose $> 6,0 \text{ mmol/L}$ fastende, med kjent diabetes mellitus før transplantasjonen, med kjent NODAT eller svekket glukose toleranse.
- Pasienter behandlet med diltiazem, verapamil, fenytoin, karbamazapin, fluconazol, ketoconazol, vorikonazol, erytromycin eller klaritromycin fikk ikke lov til å være med på denne studien på grunn av interaksjon mellom disse legemidlene og tacrolimus.

De viktigste demografiske data fra pasientene som ble studert i denne oppgaven er vist i tabell 2.

Tabell 2: Pasientenes demografiske data.

Pasient ID	Tac morgen dose (mg)	Kjønn (K/M)	Alder (år)	Vekt (kg)	Høyde (cm)	p-kreatinin (µmol/L)	Steroid dose (mg)	TXT (mnd)
1	5,0	K	38	68	150	73	5,0	118
2	4,0	M	48	65	175	79	2,5	60
3	4,0	M	40	86	182	112	5,0	156
4	3,0	M	43	93	184	94	5,0	9
5	4,0	K	32	69	164	64	5,0	66
6	2,0	M	58	101	185	96	5,0	27
7	2,0	M	47	78	176	113	5,0	18
8	4,0	K	46	54	158	110	5,0	85
9	1,5	M	38	77	180	90	5,0	48
10	3,5	M	48	100	190	103	5,0	33
11	3,5	M	79	80	185	156	5,0	132
12	4,0	M	58	79	185	131	5,0	33
13	6,0	M	35	56	157	95	5,0	102
14	3,5	M	74	76	175	96	5,0	84
15	2,0	K	26	52	165	60	5,0	27
16	4,0	M	39	89	179	140	5,0	72
17	2,0	M	40	69	185	151	5,0	60
18	4,0	M	37	95	192	116	5,0	18
19	15,0	M	32	88	180	100	5,0	7
20	4,0	K	28	58	166	125	5,0	72
Mean	4,1		44	77	175	105	4,9	61
SD	2,8		14	14	12	27	0,6	42

p-kreatinin=plasma kreatinin, TXT=Tid etter transplantasjon, SD=Standardavvik.

Pasientenes daglige tacrolimus dose var mellom 1,5-15 mg (tabell 2). Terapeutisk vindu konsentrasjon, C_0 for tacrolimus, var 5-10 ng/L under studien.

Studien var godkjent av REK og ble utført i henhold til Helsinki deklarasjon. Skriftlig samtykke fra alle pasientene var innsamlet [27].

2.2 STUDIE DESIGN OG METODER

Blodprøvene ble tatt om morgenen på fastende mage før tacrolimus dosen (ved tid 0), deretter ved 0,25, 0,5, 1, 1,5, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 23 og 24 timer etter tacrolimus inntak. Av praktiske grunner tok ikke alle pasientene alle disse prøvene. [27].

Som nevnt tidligere var studien en crossover studie slik at pasientene først ble behandlet med Prograf® (to ganger daglig tacrolimus formulering) i noen uker, så konvertert til alternativ tacrolimus formulering Advagraf® (1 gang daglig). Advagraf® dosen pasientene fikk etter konverteringen var lik Prograf® dosen før konvertering (samme døgn dose av Prograf® og Advagraf®). Ved behov var påfølgende dosejusteringer tillatt under studien for å opprettholde C_0 for tacrolimus på 5-10ng/L selv om hensikten med studien var å ikke endre dosen [27].

Alle 220 blodkonsentrasjonsprøvene som var tatt av pasientene, ble brukt til å utvikle en farmakokinetisk populasjonsmodell for Advagraf®.

2.3 TACROLIMUS ANALYSE

Prøvene med tacrolimus fullblodkonsentrasjon ble analyert ved å bruke immunoassay metode (Architect Tacrolimus Assay on an Architect i2000SR system, Abbott Diagnostics, Abbott Park, IL, USA) [27].

2.4 POPULASJONSMODELL OPPBYGGING

Farmakokinetisk populasjonsmodell ble utviklet ved å bruke NONMEM (versjon VI), Microsoft office Excel 2007 og Minitab.

Forskjellige typer kompartment modeller og Erlang distribusjon (ADVAN5 SS5) ble prøvd for å finne den beste strukturelle modellen for Advagraf®. En-, to- og tre-kompartiment modell ble testet, der første ordens absorpsjonskinetikk ble anvendt med eller uten lag-tid i absorpsjonsfasen [19].

2.5 KOVARIATFRI MODELL

Data fra pasientene ble samlet i et Excel-regneark etter følgende variabler:

Advagraf® dosen, dato for prøvetaking, klokkeslett for inntak av dosen og når blodprøvene ble tatt, vekt, MDV, SS, doseintervall, type kompartment modell, alder, TXT og STER.

Excel-regnearket ble konvertert til en .txt input-fil (NM-TRAN) for testing i NONMEM.

Kontrollfil ble laget og testet i alle strukturelle modellene der både første ordens absorpsjon, med eller uten absorpsjons lag-tid, og Erlang distribusjon (ADVAN5 SS5) ble anvendt. For å kunne utvikle en stabil kovariatfri modell, ble parameter estimatene testet i NONMEM. Parameter estimer fra tidligere studie, Benkali K. et al. 2010, ble brukt som utgangspunkt for å finne de rette estimatene. De parameter estimatene som ble funnet, ble ytterligere testet for stabilitet ved å øke og redusere estimatene med $\pm 10\%$, $\pm 20\%$ og $\pm 30\%$.

Parameterne som ble brukt i denne modellen var clearance (CL/F), interkompartiment clearance (Q/F), sentral volum (V_1/F), perifer volum (V_2/F), absorpsjonshastighet konstant (K_A) og absorpsjon lagtid (ALAG).

2.6 KOVARIAT ANALYSE

Kovariater deles i to typer: kontinuerlige kovariater og binomiske kovariater. Kontinuerlige kovariater er vanligvis enklest å bruke ved å sette kovariatene i en linear, eksponensiell eller proporsjonal likning, mens binomiske kovariater blir håndtert ved en eller flere IF/ELSE metode [37, 41].

Kovariater ble inkludert i kovariatfri modell for å beskrive sammenhengen mellom kovariatene og modellens parametere. Kovariatene ble valgt og sortert basert på tidligere studier. Kovariatene som ble valgt var; CYP3A5 genotype, alder (år), hematokrit, tid etter transplantasjon (mnd), prednisolon dose (mg/dag), vekt (kg), hemoglobin nivået (g/dL), kjønn, plasma kreatinin ($\mu\text{mol/L}$), BMI (kg/m^2) og GFR (mL/min). Binomiske kovariatene var CYP3A5 genotype og kjønn, mens resten av kovariatene var kontinuerlige [3, 19, 20].

En modell med kovariater ble utviklet ved å bruke inklusjon (forward inklusjon), og deretter eliminering (backward elimination) [13, 19, 20, 34]. Hver kovariat ble testet med hver parameter, i hver mulig likning i NONMEM. I inklusjon, hvis en kovariat ble funnet å gi en signifikant forbedring av OFV, gikk den signifikante kovariaten videre til eliminerings testen. Så ble en ny kovariat testet på samme måte til alle kovariatene var testet. En signifikant forbedring ble satt til $\text{OFV} \geq 3,84$ tilsvarer ($p < 0,05$ med 1 df) i inklusjon [13, 19, 20, 34].

Påvirkningen av kontinuerlige kovariater ble testet ved å bruke disse likningene [1, 23, 34, 40, 43]:

Linear modell:
$$\text{TV}_{\text{pop}} = \theta_p + \theta_1 \times \text{kovariat} \quad (2)$$

$$\text{TV}_{\text{pop}} = \theta_p - \theta_1 \times \text{kovariat} \quad (3)$$

$$\text{TV}_{\text{pop}} = \theta_p + \theta_1 / \text{kovariat} \quad (4)$$

$$\text{TV}_{\text{pop}} = \theta_p - \theta_1 / \text{kovariat} \quad (5)$$

Eksponensiell modell:
$$\text{TV}_{\text{pop}} = \theta_p \times (\text{kovariat})^{\theta_1} \quad (6)$$

Proporsjonal modell:
$$\text{TV}_{\text{pop}} = \theta_p \times \text{kovariat} \quad (7)$$

- hvor TV_{pop} er typisk verdig i populasjonen (parameter estimat), θ_p er individuell estimat av parameteren og θ_1 er faktoren som medvirker av kovariater.

Binomiske kovariater ble også testet på lik linje som kontinuerlige kovariatene, men med IF/ELSE metoden [1, 41]:

IF (COV.EQ.0) THEN (8)

$$TV_{pop} = \theta_p \pm \theta_1 \times EXP(ETA(p))$$

ELSE

$$TV_{pop} = \theta_p \pm \theta_2 \times EXP(ETA(p))$$

ENDIF

Eller

IF (COV.EQ.0) THEN (9)

$$TV_{pop} = \theta_p \pm \theta_1 / EXP(ETA(p))$$

ELSE

$$TV_{pop} = \theta_p \pm \theta_2 / EXP(ETA(p))$$

ENDIF

Eller

IF (COV.EQ.0) THEN (10)

$$TV_{pop} = \theta_p \times [EXP(ETA(p))]^{\theta_1}$$

ELSE

$$TV_{pop} = \theta_p \times [EXP(ETA(p))]^{\theta_2}$$

ENDIF

Etter inkludering av alle signifikante kovariater i modellen, ble eliminerings testen utført med strengere krav for å se hvilke av de signifikante kovariatene som skulle inkluderes i sluttmodellen. I dette trinnet ble hver kovariat uavhengig fjernet en etter en, og hvis fjerningen ga en signifikant forverring av OFV, gikk kovariaten videre til sluttmodellen. På

den måten ble elimineringen fortsatt til alle kovariatene var testet. En signifikant forverring av OFV på 6,63 som tilsvarer $p < 0,01$ ved fjerning av hver kovariat i elimineringen, ble satt som en god kriterie for å velge kovariaten videre til sluttmodellen. Tidligere studier fra Benkali K. et al. 2010 og Saint-Marcoux F. et al. 2006, brukte strengere krav i eliminering med en forverring av OFV på 10,9 som tilsvarer ($p < 0,001$). Men ut fra tidligere studier om populasjonsmodell oppbygging og vurdering tilpasset denne oppgaven, ble $\Delta\text{OFV} \geq 6,63$ ($p < 0,01$) valgt som en signifikant forverring [34, 37, 41].

2.7 KRITERIE FOR VALG AV MODELL

Kriterier for valg av den optimale modellen var at modellen gav de beste statistiske resultatene og beskrev dataene best. Det ble lagt vekt på tre kriterier;

1. Lavest OFV

Endring i OFV ble brukt til å sammenligne forskjellige modeller. Hvis modelltesting hadde gitt en reduksjon i $\text{OFV} \geq 3,84$ ($p < 0,05$, df 1), ville modellen gi en signifikant bedre tilpasning av de observerte data [19, 20, 37].

2. GOF plotter.

GOF plotter gir en grunnleggende intern evaluering av en modell. Disse plottene ble brukt for å oppdage potensielle bias eller problemer i strukturelle modeller og /eller i tilfeldige effekter av modellen. Det ble plottet PRED og IPRED versus OBS, WRES versus tid, pasientenes ID, PRED og IPRED [3, 18, 19, 20].

3. Mest stabile parameter estimerer i modellen under stabilitet testingen.

2.8 VALIDERING AV SLUTTMODELL

2.8.1 INTERN VALIDERING

2.8.1.1 Jackknife metode

For å beregne konfidensintervaller for parameter estimatene, ble en metode brukt kalt Jackknife metode. Metoden innebar uavhengig ekskludering av data. I dette tilfelle ble en og en pasient uavhengig ekskludert fra pasientenes fulldatasett, slik at det ble laget totalt 20 Jackknife inputfiler. Jackknife datasettene ble testet i NONMEM med den endelige modellen. Parameter estimatene fra Jackknife datasettene (etter testen i NONMEM) ble ført i Excel regneark slik at hver parameter hadde 20 estimer. I regnearket ble gjennomsnittet, standardavviket, standardfeilen og 95% konfidensintervallet for hver parameter estimat beregnet. Parameter estimatene fra Jackknife datasettene ble testet for normalfordeling, resultatene viste at de ikke var normalfordelte [8, 25, 30]. Derfor ble 95% konfidensintervallet på nytt beregnet for parameter estimatene, ved å bruke Wilcoxon Signed Rank test. (Wilcoxon Signed Rank test brukes når populasjonen ikke er normalfordelt).

2.8.1.2 Data-splitting metode

Data-splitting metode ble brukt til å vurdere i hvilke grad individer ville påvirke resultatene fra modelleringen, og for å bekrefte robustheten av den endelige modellen. I denne metoden ble fulldatasett med alle pasientene delt i 10 tilfeldige undergrupper, der hver undergruppe inneholdt 90% av pasientdata. Det vil si at hver undergruppe inneholdt data fra alle pasientene, untatt data fra to pasienter som vist i tabell 3. Tilfeldig fordeling av undergruppene ble utført ved å bruke tilfeldig sekvens generator fra en internettside www.random.org/sequences [3, 7, 13, 23].

Tabell 3: Gruppefordeling.

Undergrupper	Pasienter ekskludert	
	Pasient A	Pasient B
1	10	11
2	12	18
3	19	14
4	8	3
5	17	20
6	15	5
7	7	16
8	9	2
9	13	4
10	1	6

Undergruppene med 90% datasett ble testet i NONMEM ved å bruke den endelige modellen. Parameter estimatene fra 90% datasettene, ble sammenlignet med parameter estimatene fra fulldatasett for å validere parameter estimatene i sluttmodellen.

OFV for fulldatasett, men med fiksert parameter estimer fra 90% datasett, ble også sammenlignet med OFV for fulldatasett med alle pasientdata i sluttmodellen.

Variasjon i OFV for de 10 ulike undergruppene ble undersøkt. Hvis den absolutte forskjellen mellom OFV fra fulldata (med alle pasientene) og OFV fra hver undergruppe (med fiksert parameter estimer fra 90% datasett) var $\leq 3,84$, tydet det på at OFV fra undergruppen var innenfor 95% konfidensintervallet.

2.8.1.2 Prediktiv prestasjon (predictive performance)

I denne metoden ble 10% pasientdata tilbakeført til de 10 undergruppene som inneholdt 90% datasett. Parameter estimatene fra 90% datasett ble satt i kontrollfilen for hver undergruppe. Hver undergruppe hadde egen inputfil der X-antall data (observerte konsentrasjoner fra de 10% pasientene som ble ekskludert) ved forskjellige tider var fjernet. Det vil si at hver undergruppe hadde fem inputfiler;

1. inputfil med alle observerte konsentrasjoner fra 10% pasientdata.
2. inputfil uten observerte konsentrasjoner fra 10% pasientdata.
3. inputfil med observerte konsentrasjoner kun ved $t=0$ fra 10% pasientdata.
4. inputfil med observerte konsentrasjoner kun ved $t=0$ og $t=1$ fra 10% pasientdata.
5. inputfil med observerte konsentrasjoner kun ved $t=0$, $t=1$ og $t=3$ fra 10% pasientdata.

Hver undergruppe ble testet i NONMEM med kommando "MAXEVAL=0" og "posthoc" i estimeringslinjen.

Blodkonsentrasjoner ved $t=0$, $t=1$ og $t=3$ ble valgt fordi de optimale tidsintervallene av de 10 undergruppene som ble testet, var funnet å være 0, 1 og 3 timer etter dosering [3, 13, 23].

Hensikten med dette trinnet var som nevnt tidligere, å teste validitet av parameter estimatene, robusthet av den endelige modellen, og å evaluere prediktiv prestasjon av den endelige modellen.

2.9 STATISTIKK OG BEREGNINGER

For å beregne forskjellen mellom predikerte og observerte konsentrasjoner, ble IPRED fra NONMEM brukt. ME ($\mu\text{g/L}$) ble beregnet for å måle bias, MSE ($\mu\text{g/L}$)² og RMSE ($\mu\text{g/L}$) ble beregnet for å vurdere presisjon. Prediktiv prestasjon ble også vurdert ved SPE.

$$\text{ME} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (C_{\text{pred}} - C_{\text{obs}}) \quad (10)$$

$$\text{MSE} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (C_{\text{pred}} - C_{\text{obs}})^2 \quad (11)$$

$$\text{RMSE} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \sqrt{(C_{\text{pred}} - C_{\text{obs}})^2} \quad (12)$$

$$\text{SPE} = \frac{C_{\text{obs}} - C_{\text{pred}}}{SD_{\text{pred}}} \quad (13)$$

- hvor C_{obs} er observert konsentrasjon, C_{pred} er predikert konsentrasjon, $SD_{C_{\text{pred}}}$ er standardavvik av predikert konsentrasjon og n er total antall observasjoner [13, 20, 23].

3 RESULTATER

3.1 RESULTATER FRA MODELL OPPBYGGING

En-, to- og tre-kompartiment modell med første ordens absorpsjon uten lag-tid gav høy OFV, men ved å legge til lag-tid ble OFV betydelig redusert, spesielt i to- og tre-kompartiment modell med første ordens absorpsjon. To-kompartiment modell med første ordens absorpsjon og lag-tid var redusert til 367,94 (fra 516,69). Tre-kompartiment med første ordens absorpsjon og lag-tid var redusert til 367,68 (fra 503,43) (tabell 4).

OFV økte med økende antall Erlang kompartiment i Erlang distribusjon (2-6 Erlang kompartiment), unntatt 1 Erlang kompartiment (OFV var høyere enn 2 og 3 Erlang kompartiment).

Residual variasjon var forholdsvis lik for to-kompartiment modell med første ordens absorpsjon med lag-tid, tre-kompartiment modell med første ordens absorpsjon med lag-tid og to-kompartiment modell med to Erlang kompartiment (tabell 4).

Tabell 4: Resultater for OFV og residual variasjon av ulike testede modeller før valg av den beste strukturelle modellen.

Testet modell	OFV	Residual variasjon	
		Proporsjonal (%)	Additive (µg/L)
1-kompartiment m/ 1. ordens absorpsjon	552,57	0,01610	0,8620
1-kompartiment m/ 1. ordens absorpsjon m/ lag-tid	444,92	0,01420	0,0100
2-kompartiment m/ 1. ordens absorpsjon	516,69	0,01830	0,2850
2-kompartiment m/ 1. ordens absorpsjon m/ lag-tid	367,94	0,00684	0,0568
3-kompartiment m/ 1. ordens absorpsjon	503,43	0,01650	0,3700
3-kompartiment m/ 1. ordens absorpsjon m/ lag-tid	367,68	0,00687	0,0522
2-kompartiment m/ 1 Erlang kompartiment	386,86	0,00672	0,1410
2-kompartiment m/ 2 Erlang kompartiment	374,74	0,00716	0,0549
2-kompartiment m/ 3 Erlang kompartiment	381,11	0,00769	0,0435
2-kompartiment m/ 4 Erlang kompartiment	394,61	0,00872	0,0370
2-kompartiment m/ 5Erlang kompartiment	408,45	0,00932	0,0497
2-kompartiment m/ 6 Erlang kompartiment	421,33	0,00927	0,1000

CL/F estimatene fra de forskjellige modellene hadde for det meste minimal variasjon, for de andre estimatene var det betydelig variasjon (tabell 5).

Tabell 5: Farmakokinetiske parameter estimer i forskjellige testede modeller.

Modeller	CL/F (L/h)	V₁/F (L)	Q/F (L/h)	V₂/F (L)	Q₁/F (L/h)	V₃/F (L)	K_A (h⁻¹)	ALAG (hrs)
1-kompartiment m/ 1. ordens absorpsjon	17,9	348					0,919	
1-kompartiment m/ 1. ordens absorpsjon m/ lag-tid	17,2	408					2,300	0,393
2-kompartiment m/ 1. ordens absorpsjon	18,8	206	33,80	440			0,465	
2-kompartiment m/ 1. ordens absorpsjon m/ lag-tid	18,0	282	31,30	347			1,250	0,371
3-kompartiment m/ 1. ordens absorpsjon	19,2	98,9	8,32	409	21,10	996	0,224	
3-kompartiment m/ 1. ordens absorpsjon m/ lag-tid	18,0	283	29,40	314	1,44	90,4	1,260	0,372

CL/F=clearance, V₁/F=sentral volum, Q/F=interkompartimental clearance 1, V₂/F=periferal volum i kompartiment 1, Q₁/F=interkompartimental clearance 2, V₃/F=periferal volum i kompartiment 2, K_A=absorpsjonshastighet konstant, ALAG=absorpsjon lag-tid.

Etter stabilitet testen av parameter estimatene, var det to-kompartiment modell med første ordens absorpsjon og lag-tid som gav mest stabile parameter estimer (tabell 6).

Tabell 6: Resultater fra stabilitet testen av parameter estimer for to-kompartment modell med første ordens absorpsjon og lag-tid.

Parametere	Parameter estimer	Parameter estimer					
		-10%	10%	-20%	20%	-30%	30%
CL /F	18	18	18	18	18	18	18
V ₁ /F	282	282	282	282	282	282	282
Q /F	31,3	31,3	31,3	31,3	31,3	31,3	31,2
V ₂ /F	347	347	347	346	347	347	346
K _A	1,25	1,25	1,25	1,25	1,25	1,25	1,26
ALAG	0,371	0,371	0,371	0,371	0,371	0,371	0,371
ETA1	0,192	0,192	0,192	0,192	0,192	0,192	0,192
ETA2	0,475	0,475	0,475	0,475	0,475	0,475	0,475
ETA3	0,472	0,472	0,472	0,472	0,472	0,472	0,471
ETA4	0,00002	0,00002	0,00002	0,00002	0,00002	0,00002	0,000583
ETA5	1,18	1,18	1,18	1,18	1,18	1,18	1,18
ETA6	0,00262	0,00261	0,00261	0,00261	0,00261	0,00261	0,00261
EPS1	0,00684	0,00684	0,00684	0,00684	0,00684	0,00684	0,00685
EPS2	0,0568	0,0568	0,0568	0,0568	0,0568	0,0568	0,0566
OFV	367,94	367,94	367,94	367,94	367,94	367,94	367,95

CL/F=clearance, V₁/F=sentral volum, Q/F=interkompartmental clearance, V₂/F=periferal volum i kompartment, K_A=absorpsjonshastighet konstant, ALAG=lager-tid, ETA1=interindividuell variasjon av CL/F, ETA2=interindividuell variasjon av V₁/F, ETA3=interindividuell variasjon av Q/F, ETA4=interindividuell variasjon av V₂/F, ETA5=interindividuell variasjon av K_A, ETA6=interindividuell variasjon av ALAG, EPS1=intraindividuell variasjon (proportional error), EPS2= intraindividuell variasjon (additive error), OFV=objective function value.

3.2 KOVARIAT ANALYSE

Resultater fra testet kovariater i inklusjons testen er presentert i tabell 7.

Blant alle testede kovariater var kjønn, CYP3A5, GFR, TXT og PCR signifikante etter inklusjons testen. Inkludering av kjønn på CL/F og V₁/F gav betydelige forbedringer i OFV med 37,75 og 16,2 enheter. Men inkludering av CYP3A5 på Q/F gav minst forbedring i OFV med 3,92 enhet (tabell 7).

Tabell 7: Signifikante kovariater etter inklusjons steget.

Kovariater	Param- etere	Modell	OFV	Δ OFV	P- verdi
Kjønn	CL/F	IF (GEN.EQ.0) THEN TVCL= $\theta_1 - \theta_7 * \text{EXP}(\text{ETA}(1))$ ELSE TVCL= $\theta_1 - \theta_8 * \text{EXP}(\text{ETA}(1))$ ENDIF	330,19	37,75	<0,05
CYP3A5		IF (CYP.EQ.1) THEN TVCL= $\theta_1 - \theta_9 * \text{EXP}(\text{ETA}(1))$ ELSE TVCL= $\theta_1 - \theta_{10} * \text{EXP}(\text{ETA}(1))$ ENDIF	361,76	6,18	<0,05
Kjønn	V ₁ /F	IF (GEN.EQ.0) THEN TVV ₁ = $\theta_2 + \theta_{11} / \text{EXP}(\text{ETA}(2))$ ELSE TVV ₁ = $\theta_2 + \theta_{12} / \text{EXP}(\text{ETA}(2))$ ENDIF	351,74	16,2	<0,05
CYP3A5		IF (CYP.EQ.1) THEN TVV ₁ = $\theta_2 + \theta_{13} / \text{EXP}(\text{ETA}(2))$ ELSE TVV ₁ = $\theta_2 + \theta_{14} / \text{EXP}(\text{ETA}(2))$ ENDIF	363,82	4,12	<0,05
GFR	Q/F	TVQ= $\theta_3 - \theta_{15} * (\text{GFR}/93,74)$	363,92	4,02	<0,05
TXT		TVQ= $\theta_3 * (\text{TXT}/60)$	361,27	6,67	<0,05
CYP3A5		IF (CYP.EQ.1) THEN TVQ= $\theta_3 - \theta_{16} * \text{EXP}(\text{ETA}(3))$ ELSE TVQ= $\theta_3 - \theta_{17} * \text{EXP}(\text{ETA}(3))$ ENDIF	364,02	3,92	<0,05
PCR	K _A	TVK _A = $\theta_5 * (\text{PCR}/0,1015)^{\theta_{18}}$	363,11	4,83	<0,05
Kjønn		IF (GEN.EQ:0) THEN TVK _A = $\theta_5 - \theta_{19} * \text{EXP}(\text{ETA}(5))$ ELSE TVK _A = $\theta_5 - \theta_{20} * \text{EXP}(\text{ETA}(5))$ ENDIF	363,83	4,11	<0,05
STER	ALAG	TVALAG= $\theta_6 + \theta_{21} * (\text{STER}/5)$	360,42	7,52	<0,05
PCR		TVALAG= $\theta_6 + \theta_{22} * (\text{PCR}/0,1015)$	360,14	7,80	<0,05

CL/F=clearance, V₁/F=sentral volum, Q/F=interkompartmental clearance, K_A=absorpsjonshastighet konstant, ALAG=lag-tid, PCR=plasma kreatinin, STER=steroid dose (prednisolon dose), TXT=tid etter post-transplantasjonsperiode, GFR=glomerulær filtrasjonsrate, OFV=objective function value.

Etter eliminerings testen var CYP3A5, kjønn og PCR signifikante. Eliminering av CYP3A5 på Q/F gav betydelig forverring i OFV med 122,39 enhet, og eliminering av kjønn på K_A og PCR på ALAG gav forverring i OFV med 38 og 97,30 enheter (tabell 8).

Tabell 8: Signifikante kovariater etter eliminerings steget.

Kovariater	Parametere	Modell	OFV	Δ OFV	P
CYP3A5	Q/F	TVQ IF (CYP.EQ.1) THEN TVQ= $\theta_3-\theta_7*\text{EXP}(\text{ETA}(3))$ ELSE TVQ= $\theta_3-\theta_8*\text{EXP}(\text{ETA}(3))$ ENDIF	494,67	122,39	<0,01
Kjønn	K_A	IF (GEN.EQ:0) THEN TVK $_A$ = $\theta_5-\theta_9*\text{EXP}(\text{ETA}(5))$ ELSE TVK $_A$ = $\theta_5-\theta_{10}*\text{EXP}(\text{ETA}(5))$ ENDIF	410,28	38,00	<0,01
PCR	ALAG	TVALAG= $\theta_6+\theta_{11}*(\text{PCR}/0,1015)$	469,58	97,30	<0,01

Q/F=interkompartmental clearance, K_A =absorpsjonshastighet konstant, ALAG=lag-tid, PCR=plasma kreatinin, OFV=objective function value.

Etter gjentatt eliminering av kovariatene i tabell 8, var det kun kjønn på K_A som var signifikant og ble inkludert i sluttmodellen. Eliminering av kjønn på K_A gav en forverring i OFV med 91,72 enhet (tabell 9).

Tabell 9: Signifikant kovariat etter andre gang eliminering.

Kovariat	Parameter	Modell	OFV	Δ OFV	P
Kjønn	K_A	IF (GEN.EQ:0) THEN TVK $_A$ = $\theta_5-\theta_7*\text{EXP}(\text{ETA}(5))$ ELSE TVK $_A$ = $\theta_5-\theta_8*\text{EXP}(\text{ETA}(5))$ ENDIF	456,70	91,72	<0,01

K_A =absorpsjonshastighet konstant, OFV=objective function value.

Ved startmodellen (kovariatfri modell) var OFV på 367,94, og OFV i sluttmodellen (med kovariat) var på 360,53. Dette viste en signifikant forbedring i sluttmodellen (tabell 10).

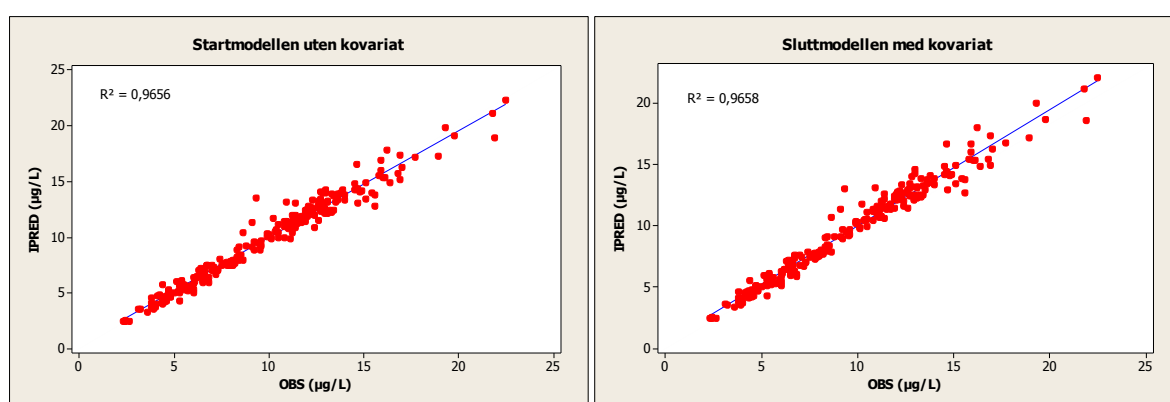
Tabell 10: Forbedring i OFV og endringer i parameter estimerer i start- (uten kovariat) og sluttmodell (med kovariat).

Modell	CL/F (L/h)	V₁/F (L)	Q/F (L/h)	V₂/F (L)	K_A (h⁻¹)	ALAG (h)	OFV
2-kompartment modell med 1. ordens absorpsjon og lag-tid	18	282	31,3	347	1,250	0,371	367,94
2-kompartment modell m/ 1. ordens absorpsjon, m/ lag-tid og kovariat	19,5	44	43,0	872	0,568	0,352	360,53

CL/F=clearance, V₁/F=sentral volum, Q/F=interkompartmental clearance, V₂/F=periferal volum i kompartment, K_A=absorpsjonshastighet konstant, ALAG=lag-tid, OFV=Objective function value.

3.2.1 Kovariat analyser basert på grafisk presentasjon

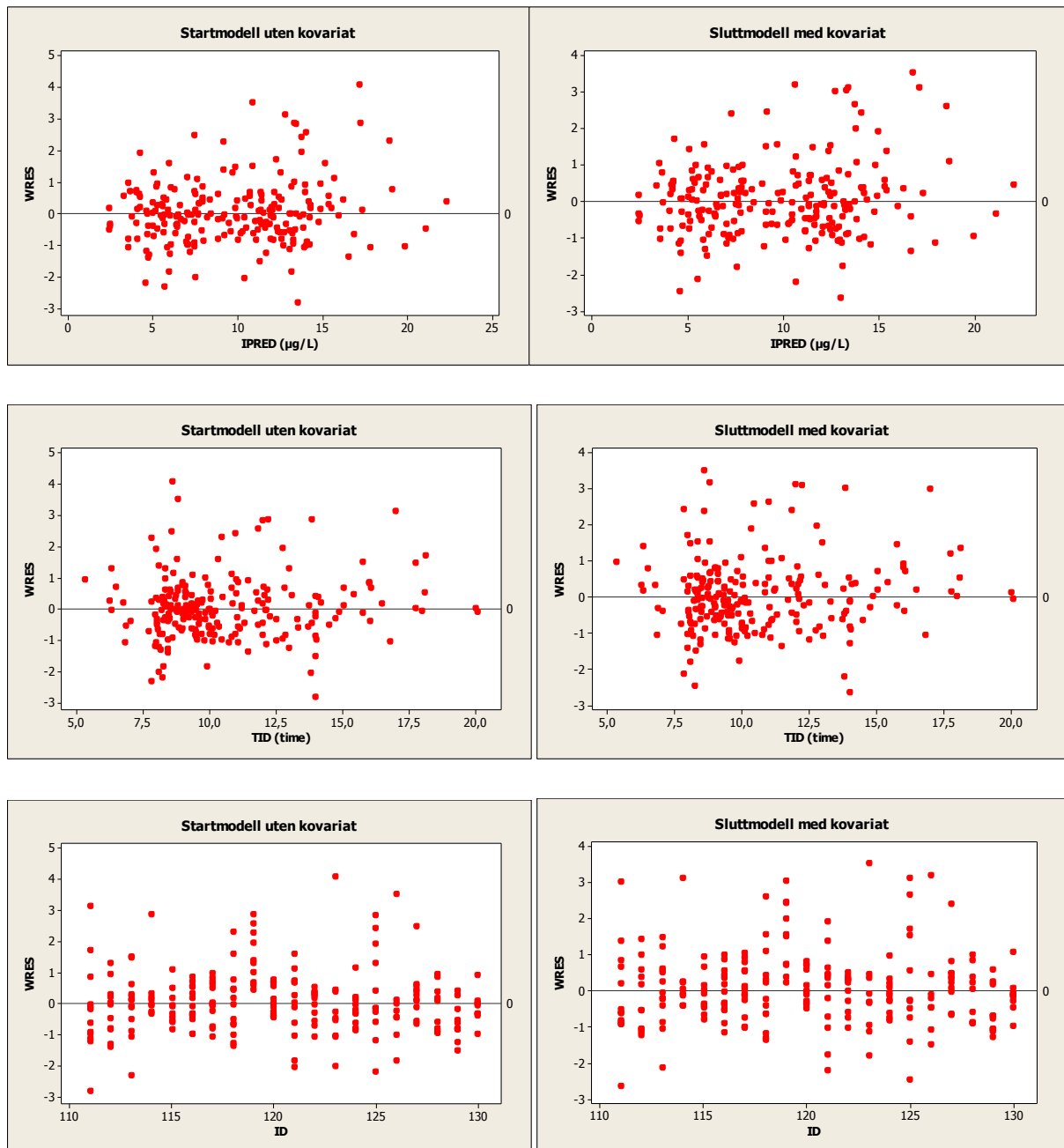
Plottene av IPRED vs. OBS for start- og sluttmodellen viste at konsentrasjonene var godt samlet rundt identifiseringslinjen (uten uteliggere), og viste god korrelasjon mellom IPRED vs. OBS. IPRED ($r^2=0,9656$) i startmodellen uten kovariat og IPRED ($r^2=0,9658$) i sluttmodellen med kovariat (figur 1). Men PRED vs. OBS plottene for start- og sluttmodellen hadde flere uteliggere og viste dårlig korrelasjon mellom PRED og OBS. PRED ($r^2=0,2133$) for startmodell uten kovariat og PRED($r^2=0,2139$) for sluttmodell med kovariat (vedlegg 7.6 figur 5).



Figur 1: GOF plottet av individuell predikert vs. observert konsentrasjon i start- og sluttmodellen.

OBS=observert konsentrasjon, **IPRED**=individuell predikert konsentrasjon

Det var stor spredning i plottene av WRES vs. IPRED og TID for både start- og sluttmodellen. Ved inkludering av kovariater til sluttmodellen ble spredningen noe redusert. Horisontallinjen ved null gikk nesten gjennom midtpunktene i WRES vs. IPRED og TID plottene, men residualene viste større spredning. Det ble også observert noen uteliggere både over og under horisontallinjen i WRES vs. IPRED, TID og pasient ID i start- (uten kovariat) og sluttmodell (med kovariat). Plottene av WRES vs. pasient ID var homogen og i et akseptabelt område i start- og sluttmodellen, men hadde endel uteliggere både over og under horisontallinjen. Plottene av WRES vs. pasient ID viste en pasient som var overpredikert både i start- og sluttmodellen (figur 2).



Figur 2: Plotter av WRES (weighted residual) vs. individuell predikert konsentrasjon (IPRED), TID og pasient ID i start- (uten kovariat) og sluttmodellen (med kovariat).

3.2.2 Sluttmodell for Advagraf®

Kontrollfilen med den endelige farmakokinetisk populasjonsmodellen er presentert i figur 3.

```
$DATA Input_Advagraf01.txt ; Navn av datasettet

$INPUT ID AMT RATE DAT1=DROP TIME C=DV WT MDV SS II CMT AGE TXT
STER SEX

$SUBROUTINE ADVAN4

$PK ; Definerer grunnleggende farmakokinetiske parametere

TVCL=THETA(1)

TVV1=THETA(2)

TVQ=THETA(3)

TVV2=THETA(4)

IF(SEX.EQ.0) THEN

TVKA=THETA(5)-THETA(7)*EXP(ETA(5)) ;KA in men

ELSE

TVKA=THETA(5)-THETA(8)*EXP(ETA(5)) ;KA in women

ENDIF

TVALAG=THETA(6)

CL=TVCL*EXP(ETA(1)) ;Clearance (CL/F) L/hr

V1=TVV1*EXP(ETA(2)) ;Central volume (V1/F), L

Q=TVQ*EXP(ETA(3)) ;Intercompartmental clearance (Q/F)

V2=TVV2*EXP(ETA(4)) ;Peripheral volume (V2/F), L

KA=TVKA*EXP(ETA(5)) ;Absorption rate constant, 1/hr

ALAG1=TVALAG*EXP(ETA(6)) ;Absorption lag time, hr
```

$S2=V1$; Skala for sentral kompartment

$K=CL/V1$; Mikro konstant mellom sentral kompartment og ut av systemet

$K23=Q/V1$; Mikro konstant mellom sentral og perifer kompartment

$K32=Q/V2$; Mikro konstant mellom perifer og sentral kompartment

\$ERROR

IPRED=F

$Y=F+F*ERR(1)+ERR(2)$; Additiv og proporsjonal residualfeil modell

\$THETA (1,24.1) ;THETA(1) is POPCL/F

\$THETA (1,238) ;THETA(2) is POPV1/F

\$THETA (1,57.6) ;THETA(3) is POPQ/F

\$THETA (1,500) ;THETA(4) is POPV2/F

\$THETA (0.1,1.95) ;THETA(5) is POPKA

\$THETA (0.1,0.386) ;THETA(6) is POPLAGTIME

\$THETA (0.01,1) ;THETA(7) is SEX effect on KA in men

\$THETA (0.01,1) ;THETA(8) is SEX effect on KA in women

\$OMEGA ; Varians av interindividuell variasjon

0.2 ;BSVCL/F

0.2 ;BSVV1/F

0.2 ;BSVQ/F

0.2 ;BSVV2/F

0.2 ;BSVKA

0.01 ;BSVALAG1

\$SIGMA 0.3 ;ERRCV, Proportional error (%), varians av intraindividuell variasjon

```
$SIGMA 10 ;ERRSD, Additive error (ug/ml), varians av intraindividuell variasjon  
$ESTIMATION SIG=3 METHOD=1 INTER MAXEVAL=999 PRINT=1 POSTHOC  
NOABORT  
$TABLE ID TIME DV IPRED MDV  
NOPRINT ONEHEADER FILE=table.txt  
$TABLE ID CL V1 Q V2 KA ALAG1 ETA1 ETA2 ETA3 ETA4 ETA5 ETA6 WT AGE  
TXT STER SEX  
FIRSTONLY NOPRINT ONEHEADER NOAPPEND FILE=etatable.txt
```

Figur 3: Kontrollfil for to-kompartment modell med første ordens absorpsjon, med lag-tid og signifikant kovariat.

3.3 VALIDERING AV SLUTTMODELL

3.3.1 INTERN VALIDERING

3.3.1.2 Jackknife metode

Resultater for estimering av 95% konfidensintervall ved bruk av Jackknife estimerer og z-test, er presentert i tabell 11.

Tabell 11: 95% CI beregnet fra Jackknife estimerer og z-test.

Parameter	Sluttmodell	Mean	SD	95% CI min.	95% CI max.
CL/F	19,50	17,99	0,966	17,56	18,41
V ₁ /F	44	91	55	67	115
Q/F	43	56,67	16,40	49,48	63,85
V ₂ /F	872	611	351	457	764
K _A	0,568	1,020	0,374	0,851	1,179
ALAG	0,352	0,340	0,016	0,335	0,348

CL/F=clearance, V₁/F=sentral volum, Q/F=interkompartmental clearance, K_A=absorpsjonshastighet konstant, ALAG=lag-tid, V₂/F=periferal volum i kompartment, SD=standardavvik, **95% CI min.**=95% konfidensintervall minimum, **95% CI max.**=95% konfidensintervall maksimum.

3.3.1.2 Data-splitting metode

Hver parameter estimat fra 90% datasett (tabell 12) var plottet mot undergruppene med parameter estimer fra fulldatasett (sluttmodell) som referanse og Jackknife standardfeil (SE for Jackknife datasett) (figur 4).

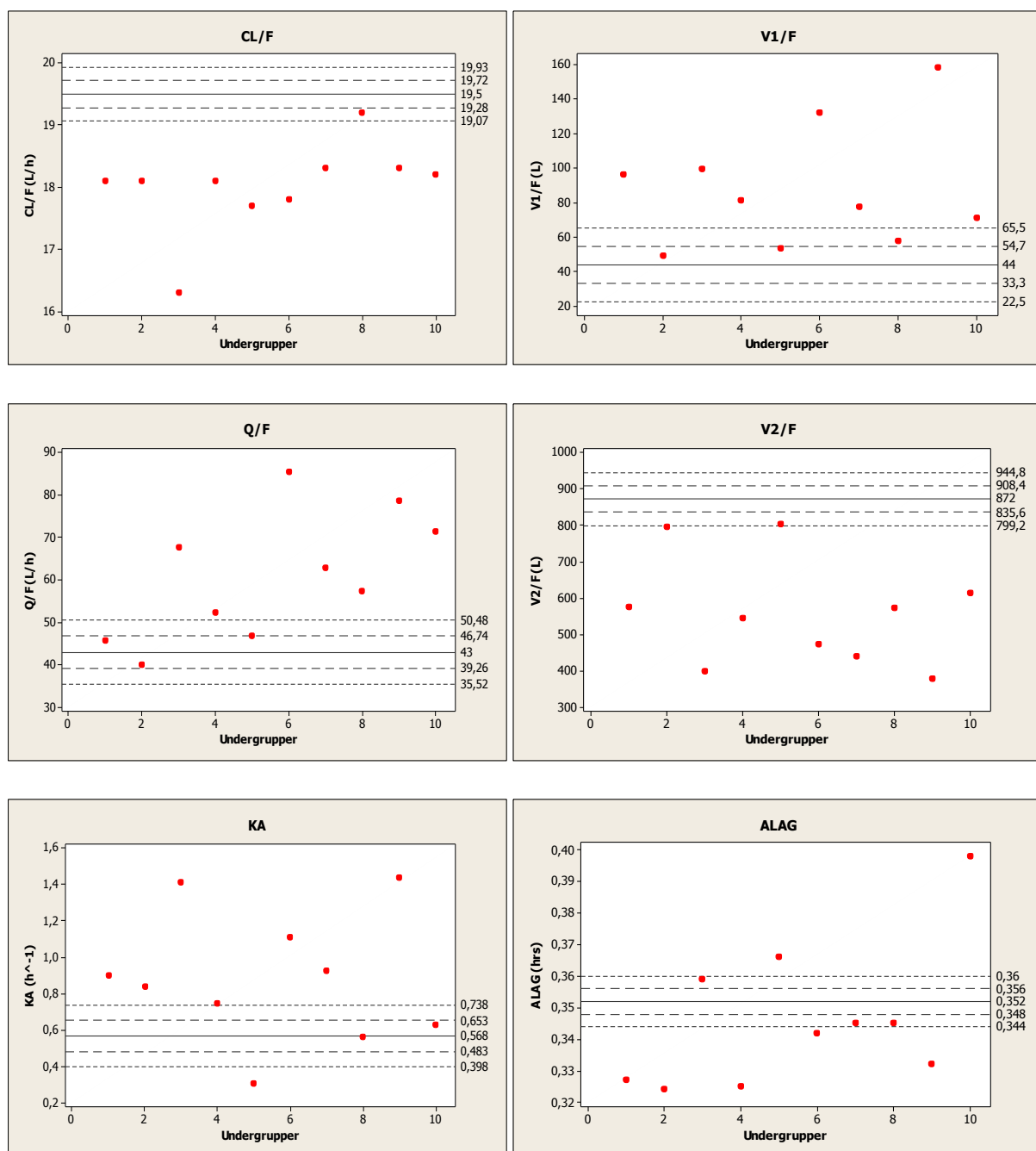
Tabell 12: Parameter estimer fra 90% datasett for ulike undergrupper sammenlignet med parameter estimer fra fulldatasett (sluttmodell), og Jackknife standardfeil ble brukt til å lage plottene i figur 4.

Undergrupper	PK parameter					
	CL/F	V ₁ /F	Q/F	V ₂ /F	K _A	ALAG
1	18,1	96,4	45,8	575	0,902	0,327
2	18,1	48,9	39,9	795	0,838	0,324
3	16,3	99,6	67,7	399	1,41	0,359
4	19,4	84,2	53,5	652	0,657	0,351
5	17,7	53,5	46,8	805	0,307	0,366
6	17,8	132	85,5	473	1,11	0,342
7	18,3	77,4	62,8	440	0,924	0,345
8	19,2	57,9	57,4	574	0,564	0,345
9	17,5	185	68,2	373	1,56	0,344
10	18,2	70,8	71,5	614	0,63	0,398
Fulldatasett-sluttmodell	19,5	44	43	872	0,568	0,352
Jackknife SE	0,216	12,30	3,67	78,40	0,084	0,004

CL/F=clearance, V₁/F=sentral volum, Q/F=interkompartmental clearance 1, V₂/F=periferal volum i

kompartment, K_A=absorpsjonshastighet konstant, ALAG=lag-tid, **Jackknife SE**=Jackknife standardfeil (standard error).

Parameter estimatene hadde store skjevheter og var enten overpredikert eller underpredikert, unntatt noen få punkter som var innenfor ± 1 SE og ± 2 SE.



Figur 4: (—) parameter estimer fra fulldatasett (sluttmodellen), (●) ~90% av populasjonsdata fra 10 undergruppene, (---) ± 1 SE (standardfeil), (.....) ± 2 SE. Standardfeilene var beregnet basert på Jackknife estimatene.

Fra tabell 13 ble det observert stor variasjon i OFV fra de 10 ulike undergruppene, slik at maksimum OFV var på 376,88 og minimum OFV var på 358,46. Den absolutte forskjellen i OFV mellom sluttmodellen og de fleste undergruppene var $> 3,84$.

Tabell 13: OFV av sluttmodellens fulldataset med fiksert parameter estimerer fra 10 undergruppene (inneholdt ~ 90% pasientdata) og sluttmodellen.

Undergrupper	OFV
1	364,39
2	358,46
3	370,36
4	365,18
5	359,03
6	369,72
7	369,32
8	370,07
9	375,70
10	376,88
Sluttmodellen	360,53

3.3.1.4 Prediktiv prestasjon (predictive performance)

Resultatet fra prediktiv prestasjon er presentert i tabell 14.

Ekskludering av alle observerte konsentrasjoner gav lave verdier (mean og SD) for ME. Men ved å inkludere konsentrasjonene C_0 , C_0+C_1 og $C_0+C_1+C_3$ økte verdiene gradvis. Fra tabell 14 var individuell predikerte konsentrasjonene underestimert.

MSE og RMSE ble benyttet for å beregne presisjon av sluttmodellen. Datasettet med alle observerte konsentrasjoner hadde høyere verdier, og viste dermed lavest presisjon.

Datasettene med observerte konsentrasjoner ved forskjellige tider, hadde minimalt avvik mellom hverandre, men bedre prediktiv prestasjon (predictive performance) (tabell 14) [6].

SPE ble også beregnet for å teste prediktiv prestasjon av sluttmodellen. Estimert gjennomsnittsverdi av SPE var nær null, og det tydet på at sluttmodellen var bra tilpasset de observerte konsentrasjonene. Standardavviket av SPE burde vært så nær 1 som mulig for å kunne gi best prediktiv prestasjon, men modellen gav ikke ønskede verdier (tabell 14) [14].

Tabell 14: Resultater for beregning av mean, SD og 95% konfidensintervall for ME, MSE, RMSE og SPE. Og mean for SD av SPE for konsentrasjoner ved tid 0, 1 og 3 timer etter tacrolimus inntak.

		ALLE*	INGEN	C₀	C₀ + C₁	C₀+C₁+C₃
ME_{alle**} (µg/L)	Mean	-0,03563	-0,03561	-0,03578	-0,03584	-0,03651
	SD	0,00780	0,00423	0,00429	0,00487	0,00534
	95% CI min.	-0,04046	-0,03823	-0,03844	-0,03886	-0,03982
	95% CI max.	-0,03080	-0,0330	-0,03312	-0,03283	-0,03320

MSE_{alle**} (µg/L)²	Mean	0,56419	0,55785	0,55273	0,54846	0,54865
	SD	0,04162	0,06713	0,06681	0,06611	0,06458
	95% CI min.	0,53840	0,51624	0,51133	0,50748	0,50862
	95% CI max.	0,58999	0,59946	0,59414	0,58943	0,58868

RMSE_{alle**} (µg/L)	Mean	0,52243	0,52013	0,51574	0,51328	0,51465
	SD	0,01874	0,02935	0,02947	0,02912	0,02846
	95% CI min.	0,51081	0,50193	0,49748	0,49523	0,49701
	95% CI max.	0,53404	0,53832	0,53400	0,53132	0,53230

SPE_{alle**}	Mean	0,00881	0,00882	0,00885	0,00887	0,00903
	SD	0,00195	0,00112	0,00114	0,00131	0,00140
	95% CI min.	0,00760	0,00813	0,00814	0,00806	0,00817
	95% CI max.	0,01002	0,00952	0,00955	0,00968	0,00990

SD SPE_{alle**}	Mean	0,18579	0,18483	0,18362	0,18294	0,18297
--------------------------------	-------------	---------	---------	---------	---------	---------

Forkortelser; ME (mean prediction error), MSE (mean squared prediction error), RMSE (root mean squared error), SPE (standardized prediction error). * er alle observerte konsentrasjoner fra 10% pasientdata inkludert i sluttmodellen. ** er resultater av alle 10 undergruppene.

4 DISKUSJON

Hensikten med denne oppgaven var å utvikle en farmakokinetisk populasjonsmodell for Advagraf® (ny formulering, gitt en gang daglig).

Farmakokinetisk populasjonsanalyse av tacrolimus ble best beskrevet av en to-kompartiment modell med første ordens absorpsjon og lag-tid. Tross alle de suksessfulle trinnene som ble utført og testet under oppbygging av modellen, var resultatet ikke som forventet. Modellen manglet robusthet etter intern validering, og årsaken kan være at det var for få pasienter (og blodprøver) i populasjonen.

4.1 POPULASJONSMODELL OPPBYGGING

Siden den nye tacrolimus formuleringen nylig var utviklet, var det få farmakokinetiske populasjonsmodeller tilgjengelig. Tidligere studier hadde funnet at to-kompartiment modell med Erlang distribusjon (3 Erlang kompartiment) best beskrev dataene i populasjonen [19, 20]. Den strukturelle modellen som ble funnet til å best beskrive dataene i denne oppgaven, var to-kompartiment modell med første ordens absorpsjon og med lag-tid.

4.2 KOVARIATFRI MODELL

En-kompartiment modell (med og uten lag-tid) hadde høyere OFV enn to- og tre-kompartiment modeller. GOF plottene fra en-kompartiment modell beskrev ikke dataene i populasjonen godt, og kunne dermed heller ikke beskrive de høyeste observerte konsentrasjonene.

To- og tre-kompartiment modell med lag-tid hadde lavere OFV. Tre-kompartiment modell med lag-tid hadde lavest OFV, men ble ikke valgt på grunn av ustabile parameter estimer og dårlig beskrivelse av data i populasjonen.

To-kompartiment modell beskrev GOF plottene bedre. Dette gjaldt også de høyeste observerte konsentrasjonene. To-kompartiment modell med lag-tid hadde også mest stabile estimer (tabell 6).

To-kompartiment modell med Erlang distribusjon (1-6 Erlang kompartiment) hadde høyere OFV enn to-kompartiment modell med lag-tid. Plottene fra to-kompartiment med Erlang modellene beskrev dataene tilnærmet like bra som to-kompartiment modell med lag-tid. Men to-kompartiment med Erlang modellene ble ikke valgt på grunn av høy OFV og ustabile parameter estimer.

Tidligere studier hadde funnet at to-kompartiment modell med Erlang distribusjon (3 Erlang kompartiment) best beskrev dataene i populasjonen [19, 20]. Dette på grunn av at de hadde flere pasienter (og blodprøver) inkludert i modellen. Antall pasienter (og blodprøver) kan ha betydning for hvilke strukturell modell som best beskriver dataene i populasjonen.

I plottet av IPRED vs. OBS for kovariatfri modell (startmodell), var konsentrasjonene forholdsvis godt samlet rundt identifiseringslinjen (figur 1), mens PRED vs. OBS plottet viste større spredning av konsentrasjonene rundt identifiseringslinjen, med flere uteliggere (vedlegg 7.6 figur 5). Sett i sammenheng tyder disse plottene på at modellen ikke er optimal.

Korrelasjon mellom IPRED vs. OBS for kovariatfri modell, var som forventet bedre enn korrelasjonen mellom PRED vs. OBS. Dette fordi IPRED er individuell prediksjon for hver pasient og PRED er gjennomsnittsverdier for parametere i hele populasjonen.

Plottene av WRES vs. IPRED og tid for kovariatfri modell viste store spredninger og hadde noen uteliggere, men viste ingen spesielle skjevheter (figur 2). Plottet av WRES vs. pasient ID viste imidlertid konstant overprediksjon hos en pasient (figur 2). Ut fra observerte konsentrasjonene for denne pasienten, var det observert at pasienten hadde langsom absorpsjon av tacrolimus som til del kan forklare at WRES verdiene ble høye (over null).

4.3 KOVARIAT ANALYSE

Etter at alle kovariatene var testet med standard inklusjons-eksklusjonsanalyse (tabell 7, 8), var det kun kjønn som var en signifikant kovariat, med effekt på K_A , som ble inkludert i sluttmodellen (tabell 9). Benkali, K. et al. rapporterte at kun CYP3A5 effekt på CL/F var signifikant og ble inkludert i sluttmodellen, mens Woillard J. et al. rapporterte både CYP3A5 og hematokritt effek på CL/F [19, 20].

Kjønn har ikke fysiologisk funksjon. Den er signifikant fordi for lavt antall pasienter (og blodprøver) inkludert i modellen, kan hindre reell statistikk (som er tilfellet i denne

oppgaven). Antall pasienter inkludert i modellen kan påvirke både hvilke kovariater som er signifikante og antallet av dem.

Inkludering av kovariat viste en signifikant forbedring av OFV med 7,41 enhet i sluttmodellen, i forhold til startmodellen uten kovariat. Parameter estimatene endret seg også i startmodellen uten kovariat og i sluttmodellen med kovariat (tabell 10). Ved inkludering av kjønn i sluttmodellen økte CL/F, mens V_1/F var betydelig redusert (nesten 6,5 ganger lavere). Q/F økte med 11,7 (L/h), og V_2/F økte betydelig (2,5 ganger høyere) etter inkludering av kjønn i sluttmodellen. K_A var også redusert til nesten halvparten, og lag-tid var redusert noe mindre. Årsaken til de store forandringene, kan være at den signifikante kovariaten, ikke tilstrekkelig kunne beskrive interindividuell og intraindividuell variasjon i parameter estimatene.

CL/F og absorpsjon som ble observert for Advagraf® (i denne oppgaven), ble sammenlignet med tidligere studier for Prograf® [1, 17]. CL/F estimert for Advagraf® var lavere enn for Prograf®, fordi Advagraf® har langsommere absorpsjonsprofil (ny formulering med forlenget frigjøring av tacrolimus).

CL/F som ble estimert i denne oppgaven, hadde forholdsvis lavt avvik fra CL/F som estimert i tidligere studier [19, 20]. Det som er verdt å nevne er at CL/F som ble estimert i denne oppgaven, kan være mindre stabil enn CL/F som var estimert i de tidligere studiene. Dette var på grunn av at de tidligere studiene for Advagraf®, hadde dobbelt så mange pasienter inkludert i studiene, som i denne oppgaven. Jo flere antall pasienter inkludert i studien, desto mer stabile blir CL/F.

Resultatet for GOF plottene av IPRED og PRED vs. OBS for sluttmodellen (med kovariat), var forholdsvis lik kovariatfri modell (figur 1, vedlegg 7.6 figur 5). Dette tydet på at inkludering av kovariat i sluttmodellen ikke forbedret modellen, og den var fortsatt ikke optimal. Korrelasjonen mellom IPRED og PRED vs. OBS for sluttmodellen var også forholdsvis lik kovariatfri modell (figur 1, vedlegg 7.6 figur 5).

Plottene av WRES vs. IPRED og tid for sluttmodellen (med kovariat), var forholdsvis lik kovariatfri modell med noen uteliggere, og viste ingen spesielle skjevheter (figur 2). Pasient 9 var fortsatt overpredikert i WRES vs. pasient ID, plottet for sluttmodellen (figur 2).

Ut fra de grafiske analysene ble det observert noe forbedring i sluttmodellen med kovariat. Forbedringen var minimal på grunn av at kun en kovariat var signifikant og inkludert i

sluttmodellen, og kunne ikke forklare pasientenes inter- og intraindividuelle variasjoner i modellen.

4.4 VALIDERING AV SLUTTMODELL

4.4.1 INTERN VALIDERING

4.4.1.1 Jackknife metode

Denne metoden ble brukt for å identifisere individuelle effekter som har stor påvirkning på parameter estimatene i modellen, og estimere 95% konfidensintervall av parameterne.

Resultater fra Jackknife var akseptable, men det ble observert at Jackknife datasett 10 (datasett uten pasient 6) og Jackknife datasett 16 (datasett uten pasient 11) gav V_2/F på 1950L (2,8-6,8 ganger høyere enn de andre) og 1050L (1,5-3,7 ganger høyere enn de andre). V_2/F for de to Jackknife datasettene var for høye, og tallene var urealistiske. Dette kan tyde på at pasient 6 og 11 hadde stor påvirkning på V_2/F . Manglende robusthet i modellen kan i tillegg påvirke stabiliteten av parameter estimatene, og lett gi høye og urealistiske verdier for enkelt parameter estimat som ble observert i dette tilfellet.

For å beregne 95% konfidensintervall ble z-test valgt istedenfor t-test. Dette fordi det var liten forskjell mellom de to testene, men siden standardavviket i dette tilfellet var kjent, var det best å bruke z-testen. For å kunne bruke z-test var det viktig å teste at Jackknife estimatene var normalfordelte. Jackknife estimatene var ikke normalfordelte, derfor ble Wilcoxon Signed Rank metode valgt til å beregne 95% konfidensintervallet på nytt. Wilcoxon Signed Rank metode brukes til å beregne konfidensintervall for populasjon som ikke er normalfordelte. Resultatet for 95% konfidensintervallet fra Wilcoxon Signed Rank metoden hadde forholdsvis lite avvik fra z-testen. Derfor ble 95% konfidensintervall og standardfeil fra Jackknife estimer og z-testen brukt videre for å lage plottene i figur 4.

4.4.1.2 Data-splitting metode

Denne metoden ble brukt for å vurdere i hvilke grad estimatene fra tabell 12 var innenfor ± 1 SE og ± 2 SE av den endelige modellen (figur 4). Plottene fra figur 4 viste store skjevheter slik at det var få estimer som var innenfor ± 1 SE og ± 2 SE, og de fleste estimatene var enten overpredikert eller underpredikert. Sett i sammenheng tydet disse plottene på at, ved å ekskludere to pasienter fra datasettet, ikke klarte å vise robustheten i modellen. Ekskludering

av to pasienter fra hver undergruppe førte til færre pasienter (og færre blodprøver), ergo ble det vanskelig å vise at modellen var robust.

Manglende robusthet i modellen førte også til at data-splitting gav veldig varierende OFV slik at differensen mellom OFV fra sluttmodellen og OFV for hver undergruppe var $>3,84$. Dette tydet på at OFV fra de fleste undergruppene ikke var innenfor 95% konfidensintervallet.

4.4.1.3 Prediktiv prestasjon (Predictive performance)

Prediktiv prestasjon ble brukt for å validere parameter estimatene, vise robusthet og evaluere prediktiv prestasjon av den endelige modellen. De observerte konsentrasjonene (fra de 10% av pasientene som ble ekskludert fra respektive gruppene) som ble valgt å inkludere i denne prediktive prestasjonstesten, var konsentrasjoner ved tid 0, 1 og 3 timer etter administrasjon av tacrolimus. De ble valgt på bakgrunn av tidligere studier som hadde funnet disse tidspunktene til å være de beste prøvetakingsstrategiene [3, 19, 20].

ME ble beregnet for å måle skjevhet i sluttmodellen (tabell 14). ME gav et lite gunstig resultat, da de individuell predikerte konsentrasjonene var underestimerte.

For å beregne presisjon av sluttmodellen ble MSE og RMSE benyttet. Datasett med alle observerte konsentrasjoner viste lavest presisjon. Gjennomsnittsverdiene for observerte konsentrasjoner ved C_0 , C_0+C_1 og $C_0+C_1+C_3$ viste bedre prediktiv prestasjon, og datasettene viste minimalt avvik mellom hverandre.

SPE ble også beregnet for å teste prediktiv prestasjon av sluttmodellen. Estimert mean av SPE var nær null. Dette tydet på at sluttmodellen var bra tilpasset de observerte konsentrasjonene. Standardavviket av SPE burde vært så nær 1 som mulig for å kunne gi best prediktiv prestasjon, men modellen gav ikke ønskede verdier (tabell 14) [14].

Det var ikke mulig å sammenligne resultatene fra tabell 14 med tidligere studier [19, 20], fordi de brukte bootstrap og VPC metoder til å validere sluttmodellen.

5 KONKLUSJON

Hovedmålet med denne oppgaven var å utvikle en farmakokinetisk populasjonsmodell for Advagraf® for å kvantifisere farmakokinetiske parametere av tacrolimus og forklare interindividuell og intraindividuell variasjon i populasjonen.

Flere strukturelle modeller med forskjellige absorpsjonsprosess var testet. Blant de forskjellige testede modellene, var det to-kompartiment modell med første ordens absorpsjon og lag-tid som best beskrev datasettene i populasjonen.

Den eneste kovariaten som var signifikant og ble inkludert i sluttmodellen var kjønn effekt på K_A . Den signifikante kovariaten hadde ikke fysiologisk funksjon. Derfor er det nødvendig å inkludere flere pasienter (flere blodprøver) og gjenta prosedyren om kovariat testing for å finne kovariater som er mer klinisk relevante å inkludere i sluttmodellen.

Til slutt ble modellen validert med en intern metode, og resultatene tydet på at den farmakokinetiske populasjonsmodellen som ble utviklet manglet robusthet og var ikke optimal. Det ble observert at manglende robusthet førte til ustabile farmakokinetiske parameter estimer i modellen. Derfor som nevnt tidligere, må flere pasienter (flere blodprøver) inkluderes for å kunne utvikle en optimal farmakokinetisk populasjonsmodell som er robust.

Konklusjonen er at for få pasienter ikke gir grunnlag for utvikling av en modell som kan brukes til å kvantifisere farmakokinetiske parametere og forklare interindividuell og intraindividuell variasjon av tacrolimus i populasjonen.

6 REFERANSER

1. Musuamba, F.T., et al., *Time of drug administration, CYP3A5 and ABCB1 genotypes, and analytical method influence tacrolimus pharmacokinetics: a population pharmacokinetic study*. Ther Drug Monit, 2009. **31**(6): p. 734-42.
2. Plosker, G.L. and R.H. Foster, *Tacrolimus: a further update of its pharmacology and therapeutic use in the management of organ transplantation*. Drugs, 2000. **59**(2): p. 323-89.
3. Benkali, K., et al., *Tacrolimus population pharmacokinetic-pharmacogenetic analysis and Bayesian estimation in renal transplant recipients*. Clin Pharmacokinet, 2009. **48**(12): p. 805-16.
4. Bauer, R.J., S. Guzy, and C. Ng, *A survey of population analysis methods and software for complex pharmacokinetic and pharmacodynamic models with examples*. AAPS J, 2007. **9**(1): p. E60-83.
5. legemiddelverk, S. *SPC*. [siteret 2011 01.05.2011]; Tilgjengelig fra: <http://www.legemiddelverket.no>
6. Sheiner, L.B. and S.L. Beal, *Some suggestions for measuring predictive performance*. J Pharmacokinet Biopharm, 1981. **9**(4): p. 503-12.
7. Haahr, M. *Random.org*. 1998-2011. [siteret 2011 29.02.2011]; Tilgjengelig fra: <http://www.random.org>
8. Lindbom, L., P. Pihlgren, and E.N. Jonsson, *PsN-Toolkit--a collection of computer intensive statistical methods for non-linear mixed effect modeling using NONMEM*. Comput Methods Programs Biomed, 2005. **79**(3): p. 241-57.
9. Aarons, L., *Population pharmacokinetics: theory and practice*. Br J Clin Pharmacol, 1991. **32**(6): p. 669-70.
10. Jelliffe, R., A. Schumitzky, and M. Van Guilder, *Population pharmacokinetics/pharmacodynamics modeling: parametric and nonparametric methods*. Ther Drug Monit, 2000. **22**(3): p. 354-65.
11. Sheiner, L.B. and T.M. Ludden, *Population pharmacokinetics/dynamics*. Annu Rev Pharmacol Toxicol, 1992. **32**: p. 185-209.
12. Sun, H., et al., *Population pharmacokinetics. A regulatory perspective*. Clin Pharmacokinet, 1999. **37**(1): p. 41-58.

13. Ishibashi, T., Y. Yano, and T. Oguma, *Population pharmacokinetics of platinum after nedaplatin administration and model validation in adult patients*. Br J Clin Pharmacol, 2003. **56**(2): p. 205-13.
14. Wu, K.H., et al., *Population pharmacokinetics of cyclosporine in clinical renal transplant patients*. Drug Metab Dispos, 2005. **33**(9): p. 1268-75.
15. Ette, E.I. and P.J. Williams, *Population pharmacokinetics II: estimation methods*. Ann Pharmacother, 2004. **38**(11): p. 1907-15.
16. Ette, E.I. and P.J. Williams, *Population pharmacokinetics I: background, concepts, and models*. Ann Pharmacother, 2004. **38**(10): p. 1702-6.
17. Zhao, W., et al., *Population pharmacokinetics and pharmacogenetics of tacrolimus in de novo pediatric kidney transplant recipients*. Clin Pharmacol Ther, 2009. **86**(6): p. 609-18.
18. Irtan, S., et al., *Population pharmacokinetics and bayesian estimator of cyclosporine in pediatric renal transplant patients*. Ther Drug Monit, 2007. **29**(1): p. 96-102.
19. Benkali, K., et al., *Population pharmacokinetics and Bayesian estimation of tacrolimus exposure in renal transplant recipients on a new once-daily formulation*. Clin Pharmacokinet, 2010. **49**(10): p. 683-92.
20. Woillard, J.B., et al., *Population pharmacokinetic model and Bayesian estimator for two tacrolimus formulations--twice daily Prograf and once daily Advagraf*. Br J Clin Pharmacol, 2011. **71**(3): p. 391-402.
21. Wlodarczyk, Z., et al., *Pharmacokinetics for once- versus twice-daily tacrolimus formulations in de novo kidney transplantation: a randomized, open-label trial*. Am J Transplant, 2009. **9**(11): p. 2505-13.
22. Sheiner, L.B. and J.L. Steimer, *Pharmacokinetic/pharmacodynamic modeling in drug development*. Annu Rev Pharmacol Toxicol, 2000. **40**: p. 67-95.
23. Saint-Marcoux, F., et al., *Patient characteristics influencing ciclosporin pharmacokinetics and accurate Bayesian estimation of ciclosporin exposure in heart, lung and kidney transplant patients*. Clin Pharmacokinet, 2006. **45**(9): p. 905-22.
24. Fjeldstad, T., *Norsk legemiddelhåndbok for helsepersonell*. 2010, Bergen: John Grieg AS. 2099 s.
25. Efron, B., *NONPARAMETRIC ESTIMATES OF STANDARD ERROR - THE JACKKNIFE, THE BOOTSTRAP AND OTHER METHODS*. Biometrika, 1981. **68**(3): p. 589-599.

26. Fisher, D. and S. Shafer, *NONMEM Workshop: Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Analysis with NONMEM. Basic Concepts*. 2007. 115 s.
27. Midtvedt, K., et al., *No change in insulin sensitivity in renal transplant recipients converted from standard to once-daily prolonged release tacrolimus*. Nephrol Dial Transplant, 2011.
28. Jonsson, E.N. and L.B. Sheiner, *More efficient clinical trials through use of scientific model-based statistical tests*. Clin Pharmacol Ther, 2002. **72**(6): p. 603-14.
29. Jelliffe, R.W., et al., *Model-based, goal-oriented, individualised drug therapy. Linkage of population modelling, new 'multiple model' dosage design, bayesian feedback and individualised target goals*. Clin Pharmacokinet, 1998. **34**(1): p. 57-77.
30. Efron, B. and G. Gong, *A LEISURELY LOOK AT THE BOOTSTRAP, THE JACKKNIFE, AND CROSS-VALIDATION*. American Statistician, 1983. **37**(1): p. 36-48.
31. Atkinson, A.J., Jr. and R.L. Lalonde, *Introduction of quantitative methods in pharmacology and clinical pharmacology: a historical overview*. Clin Pharmacol Ther, 2007. **82**(1): p. 3-6.
32. Glowacki, F., et al., *Influence of Cytochrome P450 3A5 (CYP3A5) Genetic Polymorphism on the Pharmacokinetics of the Prolonged-Release, Once-Daily Formulation of Tacrolimus in Stable Renal Transplant Recipients*. Clin Pharmacokinet, 2011.
33. First, M.R., *First clinical experience with the new once-daily formulation of tacrolimus*. Ther Drug Monit, 2008. **30**(2): p. 159-66.
34. Narwal, R., et al., *Development of a population pharmacokinetic model for atorvastatin acid and its lactone metabolite*. Clin Pharmacokinet, 2010. **49**(10): p. 693-702.
35. Crespo, M., et al., *De novo kidney transplant recipients need higher doses of Advagraf compared with Prograf to get therapeutic levels*. Transplant Proc, 2009. **41**(6): p. 2115-7.
36. Merli, M., et al., *Conversion from twice-daily to once-daily tacrolimus administration in liver transplant patient*. Transplant Proc, 2010. **42**(4): p. 1322-4.
37. Wahlby, U., E.N. Jonsson, and M.O. Karlsson, *Comparison of stepwise covariate model building strategies in population pharmacokinetic-pharmacodynamic analysis*. AAPS PharmSci, 2002. **4**(4): p. E27.

38. Rowland, M. and T.N. Tozer, *Clinical pharmacokinetics: concepts and applications*. 3rd. ed. ed. 1995, Baltimore: Williams & Wilkins. xiv, 601s.
39. Staatz, C.E. and S.E. Tett, *Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of tacrolimus in solid organ transplantation*. Clin Pharmacokinet, 2004. **43**(10): p. 623-53.
40. Mandema, J.W., D. Verotta, and L.B. Sheiner, *Building population pharmacokinetic--pharmacodynamic models. I. Models for covariate effects*. J Pharmacokinet Biopharm, 1992. **20**(5): p. 511-28.
41. Jonsson, E.N. and M.O. Karlsson, *Automated covariate model building within NONMEM*. Pharm Res, 1998. **15**(9): p. 1463-8.
42. Shargel, L., S. Wu-Pong, and A.B.C. Yu, *Applied biopharmaceutics & pharmacokinetics*. 5th ed. ed. 2005, New York: Appleton & Lange Reviews/McGraw-Hill, Medical Pub. Division. 892 s.
43. Gobburu, J.V. and J. Lawrence, *Application of resampling techniques to estimate exact significance levels for covariate selection during nonlinear mixed effects model building: some inferences*. Pharm Res, 2002. **19**(1): p. 92-8.

7. VEDLEGG

7.1 Inputfil for oppbygging av populasjonsmodell

#ID	AMT	RATE	DAT1=DROP	TIME	C=DV	WT	MDV	SS	II	CMT	AGE	TXT	STER	Hb	BMI	GFR	PCR	hct	Gen	CYP
111	5000	0	03-11-09	11	0	68	1	2	24	1	38	118	5	11,1	30,2	99,06	0,073	0,32	1	3
111	0	0	04-11-09	8,1	6,4	68	0	0	0	2	38	118	5	11,1	30,2	99,06	0,073	0,32	1	3
111	5000	0	04-11-09	8,12	0	68	1	0	0	1	38	118	5	11,1	30,2	99,06	0,073	0,32	1	3
111	0	0	04-11-09	8,45	6,5	68	0	0	0	2	38	118	5	11,1	30,2	99,06	0,073	0,32	1	3
111	0	0	04-11-09	8,62	7	68	0	0	0	2	38	118	5	11,1	30,2	99,06	0,073	0,32	1	3
111	0	0	04-11-09	9,12	9,5	68	0	0	0	2	38	118	5	11,1	30,2	99,06	0,073	0,32	1	3
111	0	0	04-11-09	9,62	10,8	68	0	0	0	2	38	118	5	11,1	30,2	99,06	0,073	0,32	1	3
111	0	0	04-11-09	10,12	10,8	68	0	0	0	2	38	118	5	11,1	30,2	99,06	0,073	0,32	1	3
111	0	0	04-11-09	12,12	11,4	68	0	0	0	2	38	118	5	11,1	30,2	99,06	0,073	0,32	1	3
111	0	0	04-11-09	14	9,3	68	0	0	0	2	38	118	5	11,1	30,2	99,06	0,073	0,32	1	3
111	0	0	04-11-09	16	13,5	68	0	0	0	2	38	118	5	11,1	30,2	99,06	0,073	0,32	1	3
111	0	0	04-11-09	17	15,6	68	0	0	0	2	38	118	5	11,1	30,2	99,06	0,073	0,32	1	3
111	0	0	04-11-09	18,12	13,3	68	0	0	0	2	38	118	5	11,1	30,2	99,06	0,073	0,32	1	3
111	0	0	05-11-09	6,32	7,3	68	0	0	0	2	38	118	5	11,1	30,2	99,06	0,073	0,32	1	3
111	0	0	05-11-09	8,79	6,8	68	0	0	0	2	38	118	5	11,1	30,2	99,06	0,073	0,32	1	3
112	4000	0	15-11-09	9	0	65	1	2	24	1	48	60	2,5	12,9	20,9	92,83	0,079	0,38	0	3
112	0	0	16-11-09	8,18	4,2	65	0	0	0	2	48	60	2,5	12,9	20,9	92,83	0,079	0,38	0	3
112	4000	0	16-11-09	8,2	0	65	1	0	0	1	48	60	2,5	12,9	20,9	92,83	0,079	0,38	0	3
112	0	0	16-11-09	8,45	4,1	65	0	0	0	2	48	60	2,5	12,9	20,9	92,83	0,079	0,38	0	3
112	0	0	16-11-09	8,7	4,7	65	0	0	0	2	48	60	2,5	12,9	20,9	92,83	0,079	0,38	0	3
112	0	0	16-11-09	9,2	7,1	65	0	0	0	2	48	60	2,5	12,9	20,9	92,83	0,079	0,38	0	3
112	0	0	16-11-09	9,7	8,3	65	0	0	0	2	48	60	2,5	12,9	20,9	92,83	0,079	0,38	0	3
112	0	0	16-11-09	10,2	9,9	65	0	0	0	2	48	60	2,5	12,9	20,9	92,83	0,079	0,38	0	3
112	0	0	16-11-09	11,2	12,6	65	0	0	0	2	48	60	2,5	12,9	20,9	92,83	0,079	0,38	0	3
112	0	0	16-11-09	12,2	12,9	65	0	0	0	2	48	60	2,5	12,9	20,9	92,83	0,079	0,38	0	3
112	0	0	16-11-09	14,2	11,4	65	0	0	0	2	48	60	2,5	12,9	20,9	92,83	0,079	0,38	0	3
112	0	0	17-11-09	5,32	6	65	0	0	0	2	48	60	2,5	12,9	20,9	92,83	0,079	0,38	0	3
112	0	0	17-11-09	6,32	6	65	0	0	0	2	48	60	2,5	12,9	20,9	92,83	0,079	0,38	0	3
113	4000	0	14-12-09	7	0	86	1	2	24	1	39	156	5	13,4	26	94,65	0,112	0,38	0	3
113	0	0	15-12-09	7,82	5,9	86	0	0	0	2	39	156	5	13,4	26	94,65	0,112	0,38	0	3
113	4000	0	15-12-09	7,83	0	86	1	0	0	1	39	156	5	13,4	26	94,65	0,112	0,38	0	3
113	0	0	15-12-09	8,08	5,9	86	0	0	0	2	39	156	5	13,4	26	94,65	0,112	0,38	0	3

113	0	0	15-12-09	8,33	8,1	86	0	0	0	2	39	156	5	13,4	26	94,65	0,112	0,38	0	3
113	0	0	15-12-09	8,83	12	86	0	0	0	2	39	156	5	13,4	26	94,65	0,112	0,38	0	3
113	0	0	15-12-09	9,33	13,4	86	0	0	0	2	39	156	5	13,4	26	94,65	0,112	0,38	0	3
113	0	0	15-12-09	9,83	13,9	86	0	0	0	2	39	156	5	13,4	26	94,65	0,112	0,38	0	3
113	0	0	15-12-09	10,83	12,7	86	0	0	0	2	39	156	5	13,4	26	94,65	0,112	0,38	0	3
113	0	0	15-12-09	11,83	12,7	86	0	0	0	2	39	156	5	13,4	26	94,65	0,112	0,38	0	3
113	0	0	15-12-09	13,75	12,3	86	0	0	0	2	39	156	5	13,4	26	94,65	0,112	0,38	0	3
113	0	0	15-12-09	15,75	12,4	86	0	0	0	2	39	156	5	13,4	26	94,65	0,112	0,38	0	3
113	0	0	15-12-09	17,75	11,1	86	0	0	0	2	39	156	5	13,4	26	94,65	0,112	0,38	0	3
113	0	0	16-12-09	6,83	5,3	86	0	0	0	2	39	156	5	13,4	26	94,65	0,112	0,38	0	3
113	0	0	16-12-09	7,83	4,4	86	0	0	0	2	39	156	5	13,4	26	94,65	0,112	0,38	0	3
114	3000	0	08-03-10	8,5	0	92,5	1	2	24	1	42	9	5	12,8	26,9	117,58	0,094	0,38	0	3
114	0	0	09-03-10	8,2	6,6	92,5	0	0	0	2	42	9	5	12,8	26,9	117,58	0,094	0,38	0	3
114	3000	0	09-03-10	8,22	0	92,5	1	0	0	1	42	9	5	12,8	26,9	117,58	0,094	0,38	0	3
114	0	0	09-03-10	8,47	6,4	92,5	0	0	0	2	42	9	5	12,8	26,9	117,58	0,094	0,38	0	3
114	0	0	09-03-10	8,72	7,8	92,5	0	0	0	2	42	9	5	12,8	26,9	117,58	0,094	0,38	0	3
114	0	0	09-03-10	9,22	11,3	92,5	0	0	0	2	42	9	5	12,8	26,9	117,58	0,094	0,38	0	3
114	0	0	09-03-10	9,72	14,6	92,5	0	0	0	2	42	9	5	12,8	26,9	117,58	0,094	0,38	0	3
114	0	0	09-03-10	10,22	15,9	92,5	0	0	0	2	42	9	5	12,8	26,9	117,58	0,094	0,38	0	3
114	0	0	09-03-10	11,22	16,9	92,5	0	0	0	2	42	9	5	12,8	26,9	117,58	0,094	0,38	0	3
114	0	0	09-03-10	12,22	18,9	92,5	0	0	0	2	42	9	5	12,8	26,9	117,58	0,094	0,38	0	3
115	4000	0	04-01-10	8	0	69	1	2	24	1	32	66	5	13,3	25,7	121,27	0,064	0,39	1	3
115	0	0	05-01-10	8,85	5,3	69	0	0	0	2	32	66	5	13,3	25,7	121,27	0,064	0,39	1	3
115	4000	0	05-01-10	8,86	0	69	1	0	0	1	32	66	5	13,3	25,7	121,27	0,064	0,39	1	3
115	0	0	05-01-10	9,11	5,9	69	0	0	0	2	32	66	5	13,3	25,7	121,27	0,064	0,39	1	3
115	0	0	05-01-10	9,36	8,2	69	0	0	0	2	32	66	5	13,3	25,7	121,27	0,064	0,39	1	3
115	0	0	05-01-10	9,86	10,9	69	0	0	0	2	32	66	5	13,3	25,7	121,27	0,064	0,39	1	3
115	0	0	05-01-10	10,36	11,9	69	0	0	0	2	32	66	5	13,3	25,7	121,27	0,064	0,39	1	3
115	0	0	05-01-10	10,86	13,2	69	0	0	0	2	32	66	5	13,3	25,7	121,27	0,064	0,39	1	3
115	0	0	05-01-10	11,69	12,4	69	0	0	0	2	32	66	5	13,3	25,7	121,27	0,064	0,39	1	3
115	0	0	05-01-10	12,86	10,5	69	0	0	0	2	32	66	5	13,3	25,7	121,27	0,064	0,39	1	3
115	0	0	05-01-10	13,86	10,3	69	0	0	0	2	32	66	5	13,3	25,7	121,27	0,064	0,39	1	3
115	0	0	05-01-10	14,86	10,1	69	0	0	0	2	32	66	5	13,3	25,7	121,27	0,064	0,39	1	3
116	2000	0	10-01-10	9	0	101	1	2	24	1	58	27	5	14,9	28	105,48	0,096	0,44	0	3
116	0	0	11-01-10	8,02	2,4	101	0	0	0	2	58	27	5	14,9	28	105,48	0,096	0,44	0	3
116	2000	0	11-01-10	8,03	0	101	1	0	0	1	58	27	5	14,9	28	105,48	0,096	0,44	0	3
116	0	0	11-01-10	8,28	2,6	101	0	0	0	2	58	27	5	14,9	28	105,48	0,096	0,44	0	3

116	0	0	11-01-10	8,53	3,6	101	0	0	0	2	58	27	5	14,9	28	105,48	0,096	0,44	0	3
116	0	0	11-01-10	9,03	5,5	101	0	0	0	2	58	27	5	14,9	28	105,48	0,096	0,44	0	3
116	0	0	11-01-10	9,53	6,3	101	0	0	0	2	58	27	5	14,9	28	105,48	0,096	0,44	0	3
116	0	0	11-01-10	10,03	8,1	101	0	0	0	2	58	27	5	14,9	28	105,48	0,096	0,44	0	3
116	0	0	11-01-10	11,08	8,6	101	0	0	0	2	58	27	5	14,9	28	105,48	0,096	0,44	0	3
116	0	0	11-01-10	12,03	7,9	101	0	0	0	2	58	27	5	14,9	28	105,48	0,096	0,44	0	3
116	0	0	11-01-10	14,03	5,4	101	0	0	0	2	58	27	5	14,9	28	105,48	0,096	0,44	0	3
116	0	0	11-01-10	16,03	4,8	101	0	0	0	2	58	27	5	14,9	28	105,48	0,096	0,44	0	3
116	0	0	11-01-10	18,08	4,6	101	0	0	0	2	58	27	5	14,9	28	105,48	0,096	0,44	0	3
116	0	0	11-01-10	20,08	3,8	101	0	0	0	2	58	27	5	14,9	28	105,48	0,096	0,44	0	3
116	0	0	12-01-10	7,03	2,4	101	0	0	0	2	58	27	5	14,9	28	105,48	0,096	0,44	0	3
116	0	0	12-01-10	8,03	2,3	101	0	0	0	2	58	27	5	14,9	28	105,48	0,096	0,44	0	3
117	2000	0	11-01-10	8,5	0	78	1	2	24	1	47	18	5	13,3	24,7	78,67	0,113	0,39	0	3
117	0	0	12-01-10	7,98	3,1	78	0	0	0	2	47	18	5	13,3	24,7	78,67	0,113	0,39	0	3
117	2000	0	12-01-10	8	0	78	1	0	0	1	47	18	5	13,3	24,7	78,67	0,113	0,39	0	3
117	0	0	12-01-10	8,25	3,2	78	0	0	0	2	47	18	5	13,3	24,7	78,67	0,113	0,39	0	3
117	0	0	12-01-10	8,5	4,5	78	0	0	0	2	47	18	5	13,3	24,7	78,67	0,113	0,39	0	3
117	0	0	12-01-10	9	6,1	78	0	0	0	2	47	18	5	13,3	24,7	78,67	0,113	0,39	0	3
117	0	0	12-01-10	9,5	6,6	78	0	0	0	2	47	18	5	13,3	24,7	78,67	0,113	0,39	0	3
117	0	0	12-01-10	10	7,8	78	0	0	0	2	47	18	5	13,3	24,7	78,67	0,113	0,39	0	3
117	0	0	12-01-10	11	8,4	78	0	0	0	2	47	18	5	13,3	24,7	78,67	0,113	0,39	0	3
117	0	0	12-01-10	12,1	7,6	78	0	0	0	2	47	18	5	13,3	24,7	78,67	0,113	0,39	0	3
117	0	0	12-01-10	14	6,6	78	0	0	0	2	47	18	5	13,3	24,7	78,67	0,113	0,39	0	3
117	0	0	12-01-10	16	6,5	78	0	0	0	2	47	18	5	13,3	24,7	78,67	0,113	0,39	0	3
117	0	0	12-01-10	18	5,4	78	0	0	0	2	47	18	5	13,3	24,7	78,67	0,113	0,39	0	3
117	0	0	12-01-10	20	5	78	0	0	0	2	47	18	5	13,3	24,7	78,67	0,113	0,39	0	3
117	0	0	13-01-10	6,5	4	78	0	0	0	2	47	18	5	13,3	24,7	78,67	0,113	0,39	0	3
117	0	0	13-01-10	8,33	3,9	78	0	0	0	2	47	18	5	13,3	24,7	78,67	0,113	0,39	0	3
118	4000	0	17-01-10	10	0	53,7	1	2	24	1	46	85	5	11,6	20,8	47,87	0,11	0,34	1	3
118	0	0	18-01-10	8,43	5,1	53,7	0	0	0	2	46	85	5	11,6	20,8	47,87	0,11	0,34	1	3
118	4000	0	18-01-10	8,45	0	53,7	1	0	0	1	46	85	5	11,6	20,8	47,87	0,11	0,34	1	3
118	0	0	18-01-10	8,78	6,8	53,7	0	0	0	2	46	85	5	11,6	20,8	47,87	0,11	0,34	1	3
118	0	0	18-01-10	8,95	8,8	53,7	0	0	0	2	46	85	5	11,6	20,8	47,87	0,11	0,34	1	3
118	0	0	18-01-10	9,45	15,9	53,7	0	0	0	2	46	85	5	11,6	20,8	47,87	0,11	0,34	1	3
118	0	0	18-01-10	9,95	19,8	53,7	0	0	0	2	46	85	5	11,6	20,8	47,87	0,11	0,34	1	3
118	0	0	18-01-10	10,45	21,9	53,7	0	0	0	2	46	85	5	11,6	20,8	47,87	0,11	0,34	1	3
118	0	0	18-01-10	11,45	14,6	53,7	0	0	0	2	46	85	5	11,6	20,8	47,87	0,11	0,34	1	3

118	0	0	18-01-10	12,5	13	53,7	0	0	0	2	46	85	5	11,6	20,8	47,87	0,11	0,34	1	3
118	0	0	18-01-10	14,5	11	53,7	0	0	0	2	46	85	5	11,6	20,8	47,87	0,11	0,34	1	3
118	0	0	18-01-10	15,42	11,2	53,7	0	0	0	2	46	85	5	11,6	20,8	47,87	0,11	0,34	1	3
118	0	0	18-01-10	16,47	10,1	53,7	0	0	0	2	46	85	5	11,6	20,8	47,87	0,11	0,34	1	3
118	0	0	19-01-10	8,75	6	53,7	0	0	0	2	46	85	5	11,6	20,8	47,87	0,11	0,34	1	3
118	0	0	19-01-10	9,5	5,6	53,7	0	0	0	2	46	85	5	11,6	20,8	47,87	0,11	0,34	1	3
119	1500	0	19-01-10	9,17	0	77	1	2	24	1	38	48	5	15,3	23,8	107,14	0,09	0,46	0	3
119	0	0	20-01-10	7,82	9,5	77	0	0	0	2	38	48	5	15,3	23,8	107,14	0,09	0,46	0	3
119	1500	0	20-01-10	7,83	0	77	1	0	0	1	38	48	5	15,3	23,8	107,14	0,09	0,46	0	3
119	0	0	20-01-10	8,08	9,1	77	0	0	0	2	38	48	5	15,3	23,8	107,14	0,09	0,46	0	3
119	0	0	20-01-10	8,33	9,6	77	0	0	0	2	38	48	5	15,3	23,8	107,14	0,09	0,46	0	3
119	0	0	20-01-10	8,83	11,2	77	0	0	0	2	38	48	5	15,3	23,8	107,14	0,09	0,46	0	3
119	0	0	20-01-10	9,33	12,4	77	0	0	0	2	38	48	5	15,3	23,8	107,14	0,09	0,46	0	3
119	0	0	20-01-10	9,83	13,6	77	0	0	0	2	38	48	5	15,3	23,8	107,14	0,09	0,46	0	3
119	0	0	20-01-10	10,83	13,8	77	0	0	0	2	38	48	5	15,3	23,8	107,14	0,09	0,46	0	3
119	0	0	20-01-10	11,83	14,8	77	0	0	0	2	38	48	5	15,3	23,8	107,14	0,09	0,46	0	3
119	0	0	20-01-10	12,75	14	77	0	0	0	2	38	48	5	15,3	23,8	107,14	0,09	0,46	0	3
119	0	0	20-01-10	13,83	14	77	0	0	0	2	38	48	5	15,3	23,8	107,14	0,09	0,46	0	3
120	3500	0	28-02-10	8,5	0	100	1	2	24	1	47	33	5	13,9	27,8	110,18	0,103	0,4	0	3
120	0	0	01-03-10	8,02	6,2	100	0	0	0	2	47	33	5	13,9	27,8	110,18	0,103	0,4	0	3
120	3500	0	01-03-10	8,03	0	100	1	0	0	1	47	33	5	13,9	27,8	110,18	0,103	0,4	0	3
120	0	0	01-03-10	8,28	6,2	100	0	0	0	2	47	33	5	13,9	27,8	110,18	0,103	0,4	0	3
120	0	0	01-03-10	8,53	8,4	100	0	0	0	2	47	33	5	13,9	27,8	110,18	0,103	0,4	0	3
120	0	0	01-03-10	9,03	13,1	100	0	0	0	2	47	33	5	13,9	27,8	110,18	0,103	0,4	0	3
120	0	0	01-03-10	9,53	15,1	100	0	0	0	2	47	33	5	13,9	27,8	110,18	0,103	0,4	0	3
120	0	0	01-03-10	10,03	16,1	100	0	0	0	2	47	33	5	13,9	27,8	110,18	0,103	0,4	0	3
120	0	0	01-03-10	11,03	14,5	100	0	0	0	2	47	33	5	13,9	27,8	110,18	0,103	0,4	0	3
120	0	0	01-03-10	12	13,3	100	0	0	0	2	47	33	5	13,9	27,8	110,18	0,103	0,4	0	3
120	0	0	01-03-10	14	11,9	100	0	0	0	2	47	33	5	13,9	27,8	110,18	0,103	0,4	0	3
120	0	0	01-03-10	15,03	11,9	100	0	0	0	2	47	33	5	13,9	27,8	110,18	0,103	0,4	0	3
120	0	0	01-03-10	16,06	11,2	100	0	0	0	2	47	33	5	13,9	27,8	110,18	0,103	0,4	0	3
120	0	0	02-03-10	9	6,7	100	0	0	0	2	47	33	5	13,9	27,8	110,18	0,103	0,4	0	3
121	3500	0	09-03-10	9,5	0	80	1	2	24	1	79	132	5	12,2	23,4	38,45	0,156	0,37	0	3
121	0	0	10-03-10	8,82	4,4	80	0	0	0	2	79	132	5	12,2	23,4	38,45	0,156	0,37	0	3
121	3500	0	10-03-10	8,83	0	80	1	0	0	1	79	132	5	12,2	23,4	38,45	0,156	0,37	0	3
121	0	0	10-03-10	9,08	4,4	80	0	0	0	2	79	132	5	12,2	23,4	38,45	0,156	0,37	0	3
121	0	0	10-03-10	9,33	6	80	0	0	0	2	79	132	5	12,2	23,4	38,45	0,156	0,37	0	3

121	0	0	10-03-10	9,9	10,9	80	0	0	0	2	79	132	5	12,2	23,4	38,45	0,156	0,37	0	3
121	0	0	10-03-10	10,33	16,9	80	0	0	0	2	79	132	5	12,2	23,4	38,45	0,156	0,37	0	3
121	0	0	10-03-10	10,83	16,8	80	0	0	0	2	79	132	5	12,2	23,4	38,45	0,156	0,37	0	3
121	0	0	10-03-10	11,83	14,5	80	0	0	0	2	79	132	5	12,2	23,4	38,45	0,156	0,37	0	3
121	0	0	10-03-10	12,83	13,1	80	0	0	0	2	79	132	5	12,2	23,4	38,45	0,156	0,37	0	3
121	0	0	10-03-10	13,8	8,6	80	0	0	0	2	79	132	5	12,2	23,4	38,45	0,156	0,37	0	3
121	0	0	10-03-10	15,75	8,3	80	0	0	0	2	79	132	5	12,2	23,4	38,45	0,156	0,37	0	3
121	0	0	10-03-10	16,8	6,7	80	0	0	0	2	79	132	5	12,2	23,4	38,45	0,156	0,37	0	3
121	0	0	10-03-10	17,76	7	80	0	0	0	2	79	132	5	12,2	23,4	38,45	0,156	0,37	0	3
122	4000	0	01-03-10	7,75	0	78,5	1	2	24	1	58	33	5	13,4	22,8	59,98	0,131	0,41	0	3
122	0	0	02-03-10	7,73	4,7	78,5	0	0	0	2	58	33	5	13,4	22,8	59,98	0,131	0,41	0	3
122	4000	0	02-03-10	7,75	0	78,5	1	0	0	1	58	33	5	13,4	22,8	59,98	0,131	0,41	0	3
122	0	0	02-03-10	8	5,3	78,5	0	0	0	2	58	33	5	13,4	22,8	59,98	0,131	0,41	0	3
122	0	0	02-03-10	8,25	8,1	78,5	0	0	0	2	58	33	5	13,4	22,8	59,98	0,131	0,41	0	3
122	0	0	02-03-10	8,75	13,6	78,5	0	0	0	2	58	33	5	13,4	22,8	59,98	0,131	0,41	0	3
122	0	0	02-03-10	9,33	15,8	78,5	0	0	0	2	58	33	5	13,4	22,8	59,98	0,131	0,41	0	3
122	0	0	02-03-10	9,75	16	78,5	0	0	0	2	58	33	5	13,4	22,8	59,98	0,131	0,41	0	3
122	0	0	02-03-10	10,75	12,8	78,5	0	0	0	2	58	33	5	13,4	22,8	59,98	0,131	0,41	0	3
122	0	0	02-03-10	11,75	13,4	78,5	0	0	0	2	58	33	5	13,4	22,8	59,98	0,131	0,41	0	3
122	0	0	02-03-10	13,72	9,9	78,5	0	0	0	2	58	33	5	13,4	22,8	59,98	0,131	0,41	0	3
122	0	0	02-03-10	14,75	9,4	78,5	0	0	0	2	58	33	5	13,4	22,8	59,98	0,131	0,41	0	3
122	0	0	03-03-10	6,25	5,5	78,5	0	0	0	2	58	33	5	13,4	22,8	59,98	0,131	0,41	0	3
123	6000	0	06-04-10	6,75	0	56	1	2	24	1	35	102	5	12,8	22,3	75,97	0,095	0,39	0	3
123	0	0	07-04-10	8,08	6,7	56	0	0	0	2	35	102	5	12,8	22,3	75,97	0,095	0,39	0	3
123	6000	0	07-04-10	8,1	0	56	1	0	0	1	35	102	5	12,8	22,3	75,97	0,095	0,39	0	3
123	0	0	07-04-10	8,35	8	56	0	0	0	2	35	102	5	12,8	22,3	75,97	0,095	0,39	0	3
123	0	0	07-04-10	8,6	17,7	56	0	0	0	2	35	102	5	12,8	22,3	75,97	0,095	0,39	0	3
123	0	0	07-04-10	9,1	22,5	56	0	0	0	2	35	102	5	12,8	22,3	75,97	0,095	0,39	0	3
123	0	0	07-04-10	9,6	21,8	56	0	0	0	2	35	102	5	12,8	22,3	75,97	0,095	0,39	0	3
123	0	0	07-04-10	10,1	19,3	56	0	0	0	2	35	102	5	12,8	22,3	75,97	0,095	0,39	0	3
123	0	0	07-04-10	11,07	16,2	56	0	0	0	2	35	102	5	12,8	22,3	75,97	0,095	0,39	0	3
123	0	0	07-04-10	12,08	17	56	0	0	0	2	35	102	5	12,8	22,3	75,97	0,095	0,39	0	3
123	0	0	08-04-10	6,87	8,2	56	0	0	0	2	35	102	5	12,8	22,3	75,97	0,095	0,39	0	3
124	3500	0	12-04-10	9	0	76	1	2	24	1	74	84	5	12,3	23,8	63,7	0,096	0,37	0	3
124	0	0	13-04-10	8,12	3,8	76	0	0	0	2	74	84	5	12,3	23,8	63,7	0,096	0,37	0	3
124	3500	0	13-04-10	8,13	0	76	1	0	0	1	74	84	5	12,3	23,8	63,7	0,096	0,37	0	3
124	0	0	13-04-10	8,38	4,3	76	0	0	0	2	74	84	5	12,3	23,8	63,7	0,096	0,37	0	3

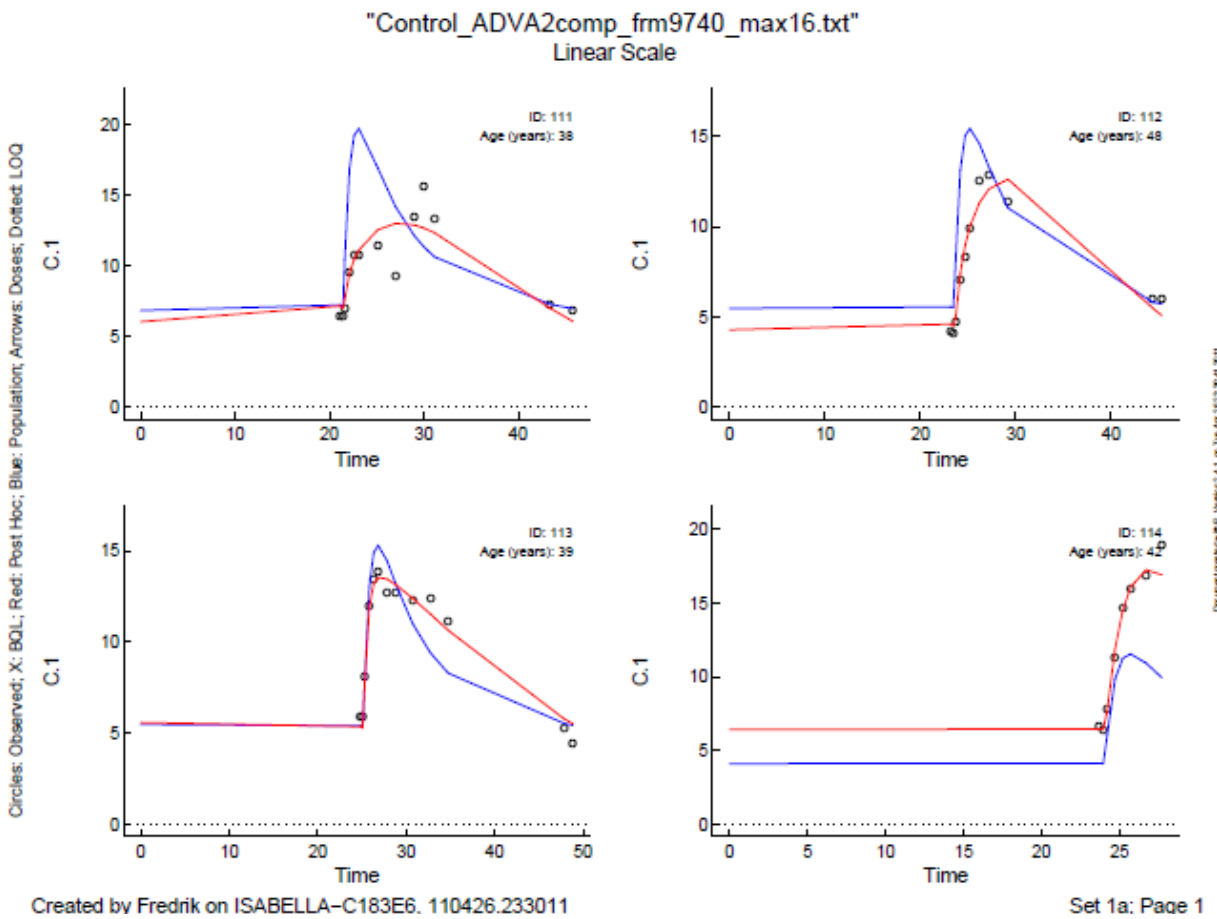
124	0	0	13-04-10	8,63	7,3	76	0	0	0	2	74	84	5	12,3	23,8	63,7	0,096	0,37	0	3
124	0	0	13-04-10	9,13	11,1	76	0	0	0	2	74	84	5	12,3	23,8	63,7	0,096	0,37	0	3
124	0	0	13-04-10	9,63	11,7	76	0	0	0	2	74	84	5	12,3	23,8	63,7	0,096	0,37	0	3
124	0	0	13-04-10	10,13	11,7	76	0	0	0	2	74	84	5	12,3	23,8	63,7	0,096	0,37	0	3
124	0	0	13-04-10	11,13	10	76	0	0	0	2	74	84	5	12,3	23,8	63,7	0,096	0,37	0	3
124	0	0	13-04-10	12,13	9,6	76	0	0	0	2	74	84	5	12,3	23,8	63,7	0,096	0,37	0	3
124	0	0	13-04-10	14	7,4	76	0	0	0	2	74	84	5	12,3	23,8	63,7	0,096	0,37	0	3
124	0	0	14-04-10	6,76	4,5	76	0	0	0	2	74	84	5	12,3	23,8	63,7	0,096	0,37	0	3
124	0	0	14-04-10	8,5	4	76	0	0	0	2	74	84	5	12,3	23,8	63,7	0,096	0,37	0	3
125	2000	0	21-03-10	14	0	51,5	1	2	24	1	26	27	5	13,2	18,7	101,81	0,06	0,39	1	3
125	0	0	22-03-10	7,97	4,3	51,5	0	0	0	2	26	27	5	13,2	18,7	101,81	0,06	0,39	1	3
125	2000	0	22-03-10	7,98	0	51,5	1	0	0	1	26	27	5	13,2	18,7	101,81	0,06	0,39	1	3
125	0	0	22-03-10	8,23	3,8	51,5	0	0	0	2	26	27	5	13,2	18,7	101,81	0,06	0,39	1	3
125	0	0	22-03-10	8,48	5,3	51,5	0	0	0	2	26	27	5	13,2	18,7	101,81	0,06	0,39	1	3
125	0	0	22-03-10	8,98	8,4	51,5	0	0	0	2	26	27	5	13,2	18,7	101,81	0,06	0,39	1	3
125	0	0	22-03-10	9,48	10,8	51,5	0	0	0	2	26	27	5	13,2	18,7	101,81	0,06	0,39	1	3
125	0	0	22-03-10	9,98	12,1	51,5	0	0	0	2	26	27	5	13,2	18,7	101,81	0,06	0,39	1	3
125	0	0	22-03-10	10,98	15,6	51,5	0	0	0	2	26	27	5	13,2	18,7	101,81	0,06	0,39	1	3
125	0	0	22-03-10	11,98	15,1	51,5	0	0	0	2	26	27	5	13,2	18,7	101,81	0,06	0,39	1	3
125	0	0	22-03-10	12,98	12,7	51,5	0	0	0	2	26	27	5	13,2	18,7	101,81	0,06	0,39	1	3
125	0	0	22-03-10	13,98	10,9	51,5	0	0	0	2	26	27	5	13,2	18,7	101,81	0,06	0,39	1	3
125	0	0	23-03-10	7,98	5,3	51,5	0	0	0	2	26	27	5	13,2	18,7	101,81	0,06	0,39	1	3
126	4000	0	13-04-10	6,5	0	88,5	1	2	24	1	39	72	5	14,7	27,8	78,24	0,14	0,43	0	3
126	0	0	14-04-10	8,28	5,4	88,5	0	0	0	2	39	72	5	14,7	27,8	78,24	0,14	0,43	0	3
126	4000	0	14-04-10	8,3	0	88,5	1	0	0	1	39	72	5	14,7	27,8	78,24	0,14	0,43	0	3
126	0	0	14-04-10	8,55	6,5	88,5	0	0	0	2	39	72	5	14,7	27,8	78,24	0,14	0,43	0	3
126	0	0	14-04-10	8,8	11,4	88,5	0	0	0	2	39	72	5	14,7	27,8	78,24	0,14	0,43	0	3
126	0	0	14-04-10	9,3	12,8	88,5	0	0	0	2	39	72	5	14,7	27,8	78,24	0,14	0,43	0	3
126	0	0	14-04-10	9,8	12,2	88,5	0	0	0	2	39	72	5	14,7	27,8	78,24	0,14	0,43	0	3
126	0	0	14-04-10	10,3	12,7	88,5	0	0	0	2	39	72	5	14,7	27,8	78,24	0,14	0,43	0	3
126	0	0	14-04-10	11,3	11,6	88,5	0	0	0	2	39	72	5	14,7	27,8	78,24	0,14	0,43	0	3
126	0	0	14-04-10	12,28	11,1	88,5	0	0	0	2	39	72	5	14,7	27,8	78,24	0,14	0,43	0	3
127	2000	0	03-05-10	8	0	69	1	2	24	1	39	60	5	11,8	20,7	56,26	0,151	0,35	0	3
127	0	0	04-05-10	8,07	4,5	69	0	0	0	2	39	60	5	11,8	20,7	56,26	0,151	0,35	0	3
127	2000	0	04-05-10	8,08	0	69	1	0	0	1	39	60	5	11,8	20,7	56,26	0,151	0,35	0	3
127	0	0	04-05-10	8,33	4,8	69	0	0	0	2	39	60	5	11,8	20,7	56,26	0,151	0,35	0	3
127	0	0	04-05-10	8,58	7,8	69	0	0	0	2	39	60	5	11,8	20,7	56,26	0,151	0,35	0	3

127	0	0	04-05-10	9,08	10,4	69	0	0	0	2	39	60	5	11,8	20,7	56,26	0,151	0,35	0	3
127	0	0	04-05-10	9,58	11	69	0	0	0	2	39	60	5	11,8	20,7	56,26	0,151	0,35	0	3
127	0	0	04-05-10	10,08	10,5	69	0	0	0	2	39	60	5	11,8	20,7	56,26	0,151	0,35	0	3
127	0	0	04-05-10	11,08	9,2	69	0	0	0	2	39	60	5	11,8	20,7	56,26	0,151	0,35	0	3
127	0	0	04-05-10	12,16	9,2	69	0	0	0	2	39	60	5	11,8	20,7	56,26	0,151	0,35	0	3
127	0	0	04-05-10	13,08	8,5	69	0	0	0	2	39	60	5	11,8	20,7	56,26	0,151	0,35	0	3
127	0	0	04-05-10	14,08	8	69	0	0	0	2	39	60	5	11,8	20,7	56,26	0,151	0,35	0	3
127	0	0	04-05-10	15,03	7,5	69	0	0	0	2	39	60	5	11,8	20,7	56,26	0,151	0,35	0	3
128	4000	0	10-05-10	10	0	95	1	2	24	1	36	18	5	11,9	26	103,81	0,116	0,35	0	3
128	0	0	11-05-10	8,98	5,7	95	0	0	0	2	36	18	5	11,9	26	103,81	0,116	0,35	0	3
128	4000	0	11-05-10	9	0	95	1	0	0	1	36	18	5	11,9	26	103,81	0,116	0,35	0	3
128	0	0	11-05-10	9,3	5,2	95	0	0	0	2	36	18	5	11,9	26	103,81	0,116	0,35	0	3
128	0	0	11-05-10	9,5	6,4	95	0	0	0	2	36	18	5	11,9	26	103,81	0,116	0,35	0	3
128	0	0	11-05-10	10	11,2	95	0	0	0	2	36	18	5	11,9	26	103,81	0,116	0,35	0	3
128	0	0	11-05-10	10,5	14,9	95	0	0	0	2	36	18	5	11,9	26	103,81	0,116	0,35	0	3
128	0	0	11-05-10	11	16,4	95	0	0	0	2	36	18	5	11,9	26	103,81	0,116	0,35	0	3
128	0	0	11-05-10	12	14,7	95	0	0	0	2	36	18	5	11,9	26	103,81	0,116	0,35	0	3
128	0	0	11-05-10	12,75	12,3	95	0	0	0	2	36	18	5	11,9	26	103,81	0,116	0,35	0	3
128	0	0	11-05-10	13,33	12	95	0	0	0	2	36	18	5	11,9	26	103,81	0,116	0,35	0	3
129	15000	0	24-05-10	8,25	0	87,5	1	2	24	1	31	7	5	12,6	27,2	116,15	0,1	0,38	0	1
129	0	0	25-05-10	7,97	6,5	87,5	0	0	0	2	31	7	5	12,6	27,2	116,15	0,1	0,38	0	1
129	15000	0	25-05-10	7,98	0	87,5	1	0	0	1	31	7	5	12,6	27,2	116,15	0,1	0,38	0	1
129	0	0	25-05-10	8,31	7,2	87,5	0	0	0	2	31	7	5	12,6	27,2	116,15	0,1	0,38	0	1
129	0	0	25-05-10	8,48	10,5	87,5	0	0	0	2	31	7	5	12,6	27,2	116,15	0,1	0,38	0	1
129	0	0	25-05-10	8,98	12,6	87,5	0	0	0	2	31	7	5	12,6	27,2	116,15	0,1	0,38	0	1
129	0	0	25-05-10	9,48	13,1	87,5	0	0	0	2	31	7	5	12,6	27,2	116,15	0,1	0,38	0	1
129	0	0	25-05-10	9,98	14,7	87,5	0	0	0	2	31	7	5	12,6	27,2	116,15	0,1	0,38	0	1
129	0	0	25-05-10	10,98	12,9	87,5	0	0	0	2	31	7	5	12,6	27,2	116,15	0,1	0,38	0	1
129	0	0	25-05-10	12	12,3	87,5	0	0	0	2	31	7	5	12,6	27,2	116,15	0,1	0,38	0	1
129	0	0	25-05-10	13	10,2	87,5	0	0	0	2	31	7	5	12,6	27,2	116,15	0,1	0,38	0	1
129	0	0	25-05-10	14	9,1	87,5	0	0	0	2	31	7	5	12,6	27,2	116,15	0,1	0,38	0	1
130	4000	0	18-05-10	9,5	0	58	1	2	24	1	28	72	5	10,6	21,2	54	0,125	0,33	1	3
130	0	0	19-05-10	8,45	4,6	58	0	0	0	2	28	72	5	10,6	21,2	54	0,125	0,33	1	3
130	4000	0	19-05-10	8,47	0	58	1	0	0	1	28	72	5	10,6	21,2	54	0,125	0,33	1	3
130	0	0	19-05-10	8,72	4,8	58	0	0	0	2	28	72	5	10,6	21,2	54	0,125	0,33	1	3
130	0	0	19-05-10	8,97	6,6	58	0	0	0	2	28	72	5	10,6	21,2	54	0,125	0,33	1	3
130	0	0	19-05-10	9,47	11,5	58	0	0	0	2	28	72	5	10,6	21,2	54	0,125	0,33	1	3

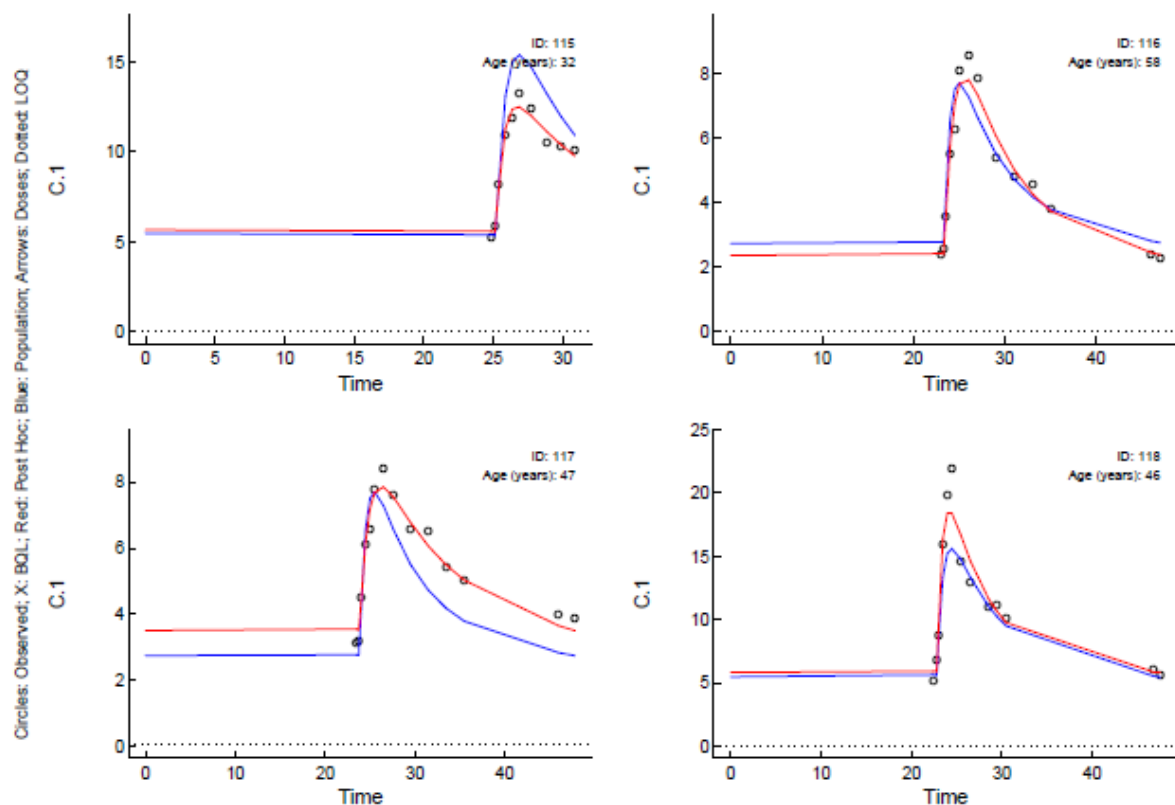
130	0	0	19-05-10	9,97	13,6	58	0	0	0	2	28	72	5	10,6	21,2	54	0,125	0,33	1	3
130	0	0	19-05-10	10,47	13	58	0	0	0	2	28	72	5	10,6	21,2	54	0,125	0,33	1	3
130	0	0	19-05-10	11,47	15,4	58	0	0	0	2	28	72	5	10,6	21,2	54	0,125	0,33	1	3
130	0	0	19-05-10	12,5	12,6	58	0	0	0	2	28	72	5	10,6	21,2	54	0,125	0,33	1	3
130	0	0	19-05-10	13,3	11,7	58	0	0	0	2	28	72	5	10,6	21,2	54	0,125	0,33	1	3
130	0	0	19-05-10	13,8	10,8	58	0	0	0	2	28	72	5	10,6	21,2	54	0,125	0,33	1	3

7.2 INDIVIDUELL TILPASNING

7.2.1 Individuell tilpasning i den endelige farmakokinetiske modellen



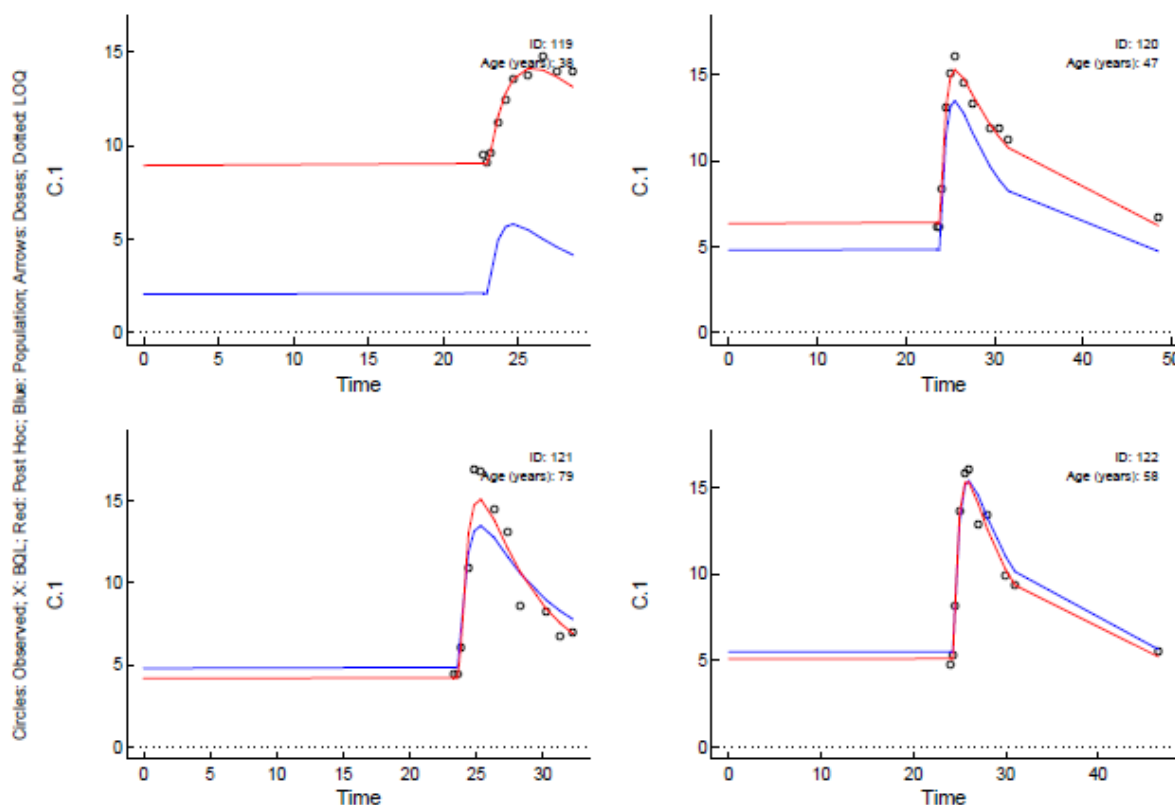
"Control_ADVA2comp_fm9740_max16.txt"
Linear Scale



Created by Fredrik on ISABELLA-C183E6, 110426.233011

Set 1b; Page 2

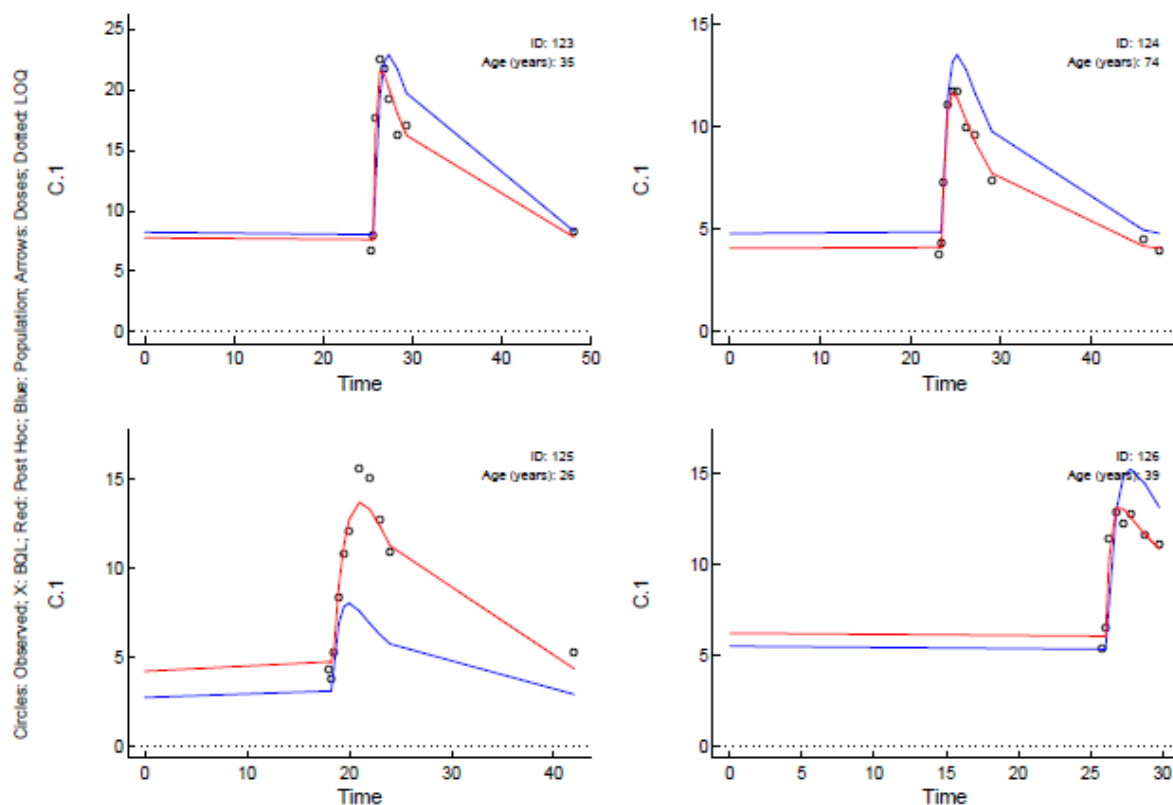
"Control_ADVA2comp_fm9740_max16.txt"
Linear Scale



Created by Fredrik on ISABELLA-C183E6, 110426.233011

Set 1c; Page 3

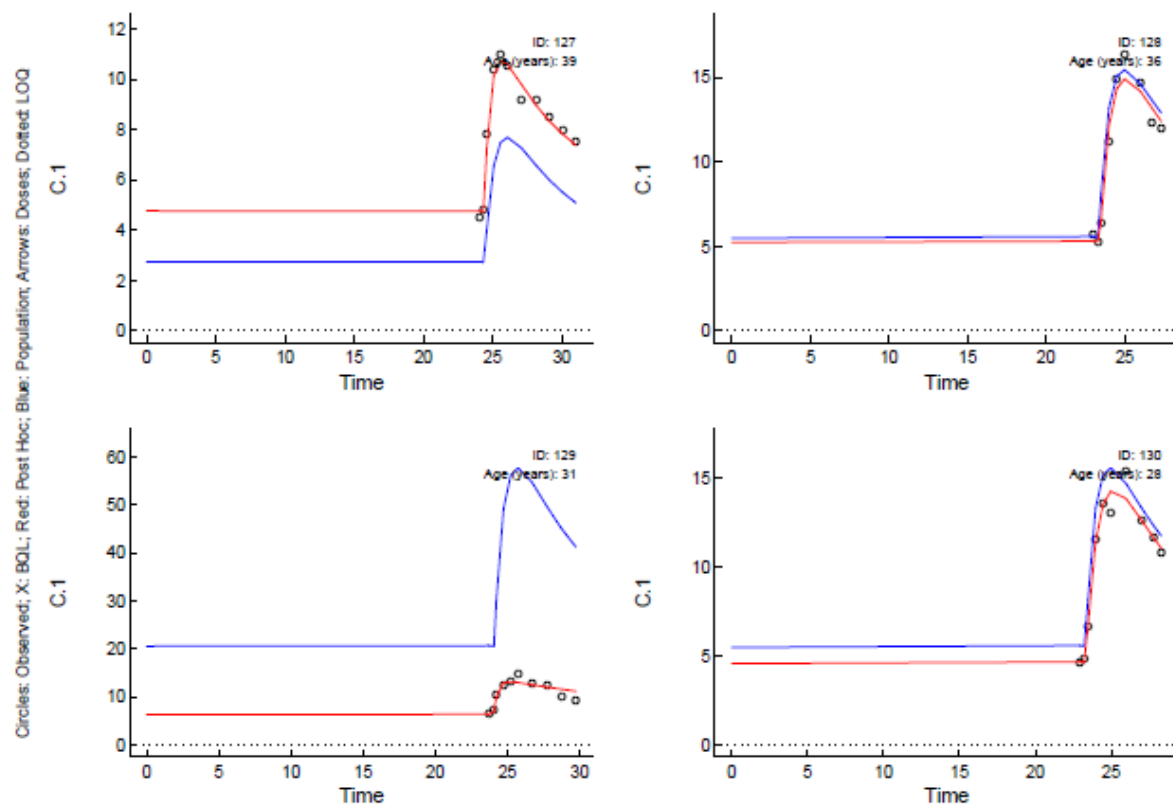
"Control_ADVA2comp_fm9740_max16.txt"
Linear Scale



Created by Fredrik on ISABELLA-C183E6, 110426.233011

Set 1d; Page 4

"Control_ADVA2comp_fm9740_max16.txt"
Linear Scale



Created by Fredrik on ISABELLA-C183F6, 110426.233011

Set 1e; Page 5

7.3 KONTROLLFILER FOR NONMEM

7.3.1 Kontrollfil for en-kompartment modell med første ordens absorpsjon og lag-tid

```
$PROBLEM 1-compartment model with first order absorpsjon with a lag-time
$DATA Input_Advagraf.txt
$INPUT ID AMT RATE DAT1=DROP TIME C=DV WT MDV SS II CMT AGE TXT STER
$SUBROUTINE ADVAN2
$PK
  TVCL=THETA(1)
  TVV1=THETA(2)
  TVKA=THETA(3)
  TVALAG=THETA(4)
  CL=TVCL*EXP(ETA(1))      ;Clearance (CL/F) L/hr
  V1=TVV1*EXP(ETA(2))      ;Central volume (V1/F), L
  KA=TVKA*EXP(ETA(3))      ;Absorption rate constant, 1/hr
  ALAG1=TVALAG*EXP(ETA(4)) ;Absorption lag time, hr
  S2=V1
  K=CL/V1
$ERROR
  IPRED=F
  Y=F+F*ERR(1)+ERR(2)
$THETA (1,24.1)    ;THETA(1) is POPCL/F
$THETA (1,238)    ;THETA(2) is POPV1/F
$THETA (0.1,1.95)  ;THETA(3) is POPKA
$THETA (0.1,0.386) ;THETA(4) is POPLAGTIME
$OMEGA
  0.2    ;BSVCL/F
  0.2    ;BSVV1/F
  0.1    ;BSVKA
  0.01   ;BSVALAG1
$SIGMA 0.3    ;ERRCV, Proportional error (%)
$SIGMA 10    ;ERRSD, Additive error (ug/ml)
```

```

$ESTIMATION SIG=3 METHOD=1 INTER MAXEVAL=999 PRINT=1 POSTHOC NOABORT

$TABLE ID TIME DV IPRED MDV

NOPRINT ONEHEADER FILE=table.txt

$TABLE ID CL V1 KA ALAG1 ETA1 ETA2 ETA3 ETA4 WT AGE TXT STER

FIRSTONLY NOPRINT ONEHEADER NOAPPEND FILE=etatable.txt

```

7.3.2 Kontrollfil for tre-kompartment modell med første ordens absorpsjon og lag-tid

```

$PROBLEM 3-compartment model with first order absorpsjon with a lag-time

$DATA Input_Advagraf.txt

$INPUT ID AMT RATE DAT1=DROP TIME C=DV WT MDV SS II CMT AGE TXT STER

$SUBROUTINE ADVAN12

$PK

TVCL=THETA(1)
TVV1=THETA(2)
TVQ1=THETA(3)
TVV2=THETA(4)
TVQ2=THETA(5)
TVV3=THETA(6)
TVKA=THETA(7)
TVALAG=THETA(8)

CL=TVCL*EXP(ETA(1))           ;Clearance (CL/F) L/hr
V1=TVV1*EXP(ETA(2))           ;Central volume (V1/F), L
Q1=TVQ1*EXP(ETA(3))           ;Intercompartmental clearance (Q1/F)
V2=TVV2*EXP(ETA(4))           ;Peripheral volume (V2/F), L
Q2=TVQ2*EXP(ETA(5))           ;Intercompartmental clearance (Q2/F)
V3=TVV3*EXP(ETA(6))           ;Peripheral volume (V3/F)
KA=TVKA*EXP(ETA(7))           ;Absorption rate constant, 1/hr
ALAG1=TVALAG*EXP(ETA(8))       ;Absorption lag time, hr

S2=V1
K=CL/V1
K23=Q1/V1

```

```

K24=Q2/V1
K32=Q1/V2
K42=Q2/V3
$ERROR
  IPRED=F
  Y=F+F*ERR(1)+ERR(2)
$THETA (1,24.1)    ;THETA(1) is POPCL/F
$THETA (1,238)    ;THETA(2) is POPV1/F
$THETA (1,57.6)    ;THETA(3) is POPQ1/F
$THETA (1,500)    ;THETA(4) is POPV2/F
$THETA (1,45)     ;THETA (5) is POPQ2/F
$THETA (1,745)    ;THETA (6) is POPV3/F
$THETA (.1,1.95)   ;THETA(7) is POPKA
$THETA (0.1,0.386) ;THETA(8) is POPLAGTIME
$OMEGA
0.2    ;BSVCL/F
0.2    ;BSVV1/F
0.2    ;BSVQ1/F
0.2    ;BSVV2/F
0.2    ;BSVQ2/F
0.2    ;BSVV3/F
0.1    ;BSVKA
0.01   ;BSVALAG1
$SIGMA 0.3    ;ERRCV, Proportional error (%)
$SIGMA 10    ;ERRSD, Additive error (ug/ml)
$ESTIMATION SIG=3 METHOD=1 INTER MAXEVAL=999 PRINT=1 POSTHOC NOABORT
$TABLE ID TIME DV IPRED MDV
NOPRINT ONEHEADER FILE=table.txt
$TABLE ID CL V1 Q1 V2 Q2 V3 KA ALAG1 ETA1 ETA2 ETA3 ETA4 ETA5 ETA6 ETA7 ETA8 WT AGE
TXT STER
FIRSTONLY NOPRINT ONEHEADER NOAPPEND FILE=etatable.txt

```

7.3.3 kontrollfil for to-kompartiment modell med Erlang distribusjon

```
$PROB 2-comptarment model with Erlang distribution (3 Erlang compartment)

$DATA Input_Advagraf3.txt

$INPUT ID AMT RATE DAT1=DROP TIME C=DV WT MDV SS II CMT AGE TXT STER

$SUBROUTINE ADVAN5 SS5

$MODEL COMP=(DEPOT,DEFDOSE)

COMP=(DELA1)

COMP=(DELA2)

COMP=(DELA3)

COMP=(CENTRAL,DEFOBS)

COMP=(PERIPH)

$PK

K12=THETA(1)*EXP(ETA(1))

K23=K12

K34=K12

K45=K12

TVCL=THETA(2)

TVV5=THETA(3)

TVV6=THETA(4)

TVQ=THETA(5)


CL=TVCL*EXP(ETA(2)) ; Clearance (CL/F), L

V5=TVV5*EXP(ETA(3)) ; Central volume of distribution (V5/F), L

V6=TVV6*EXP(ETA(4)) ; Pheriperal volume of distribution (V6/F), L

Q=TVQ*EXP(ETA(5)) ;Intercompartment clearance (Q/F), L

K50=CL/V5

K56=Q/V5

K65=Q/V6

S5=V5

$ERROR

IPRED=F
```

```

Y=F+F*ERR(1)+ERR(2)

$THETA (1,7.9) ;THETA(1) is POPLAG, K12
$THETA (1,24.1) ;THETA(2) is POPCL/F
$THETA (1,58.5) ;THETA(3) is POPV5/F
$THETA (1,215) ;THETA(4) is POPV6/F
$THETA (1,23.1) ;THETA(5) is POPQ/F

$OMEGA
0.1 ;BSVK12/F
0.2 ;BSVCL/F
0.2 ;BSVV5/F
0.2 ;BSVV6/F
0.2 ;BSVQ/F

$SIGMA 0.3 ;ERRCV, Proportional error (%)
$SIGMA 10 ;ERRSD, Additive error (ng/ml)

$ESTIMATION SIG=3 METHOD=1 INTER MAXEVAL=9999 PRINT=1 POSTHOC NOABORT

$COVARIANCE

$TABLE ID TIME IPRED MDV

NOPRINT ONEHEADER FILE=table.txt

$TABLE ID K12 CL V5 V6 Q ETA1 ETA2 ETA3 ETA4 ETA5 WT AGE TXT STER

FIRSTONLY NOPRINT ONEHEADER NOAPPEND FILE=etatable.txt

```


7.4 JACKKNIFE RESULTATER

Tabell 15: Oversikt over parameter estimater for Jekknife datasettene og sluttmodellen.

	PK parameter						
	CL/F	V1/F	Q/F	V2/F	KA	ALAG	
Sluttmodell	19,5	44	43	872	0,568	0,352	
Jackknife datasett							Ekskluderte pasienter
1	17,6	85,2	71,8	472	0,788	0,341	2
2	17	98,6	89	477	1,05	0,344	4
3	20,9	140	32,9	410	1,35	0,306	9
4	17	122	77,4	494	1,26	0,336	15
5	16,5	91,3	67,5	420	1,35	0,353	19
6	18,6	48,4	44,1	693	0,894	0,371	17
7	18,4	63,7	51,5	547	1,05	0,347	14
8	16,2	79,7	56,1	561	1,05	0,314	10
9	18,2	50,1	41,6	702	0,728	0,338	20
10	18,3	31,6	28	1950	0,162	0,36	6
11	18,2	76,6	59,2	536	0,34	0,33	3
12	18	67,8	57,7	563	1,34	0,336	18
13	17,8	216	61	287	1,18	0,359	16
14	18,3	58,2	52,1	561	1,18	0,346	7
15	17,7	77,3	70,2	452	0,976	0,324	8
16	18	43,3	36,5	1050	0,668	0,33	11
17	18,7	57,9	45,3	603	1,04	0,344	5
18	17,7	77,7	74	552	1,2	0,36	13
19	18,3	249	44,3	435	1,85	0,346	1
20	18,3	88,1	73,1	452	0,849	0,344	12

Tabell 16: 95% CI beregnet fra Jackknife estimer og Wilcoxon Signed Rank.

Parameter	Sluttmodell	Median	95% CI min.	95% CI max.
CL/F	19,5	18,0	17,6	18,3
V₁/F	44	78,5	64,3	105,1
Q/F	43	56,8	48,4	64,8
V₂/F	872	528	481	623
K_A	0,568	1,039	0,854	1,190
ALAG	0,352	0,342	0,334	0,349

CL/F=clearance, **V₁/F**=sentral volum, **Q/F**=interkompartmental clearance, **K_A**=absorpsjonshastighet konstant, **ALAG**=lag-tid, **V₂/F**=periferal volum i kompartment, **95% CI min.**=95% konfidensintervall minimum, **95% CI max.**=95% konfidensintervall maksimum.

7.5 Prediktiv prestasjon

Tabell 17: Oversikt over ME for hver undergruppe med forskjellige innhold av individuell predikerte konsentrasjoner, mean, SD, SE og 95% CI.

Undergrupper	Alle kons.	Ingen kons.	C₀	C₀ + C₁	C₀+C₁+C₃
1	-0,04394	-0,04216	-0,04217	-0,04329	-0,04389
2	-0,04185	-0,04014	-0,03998	-0,04072	-0,04100
3	-0,02626	-0,03551	-0,03397	-0,03134	-0,02953
4	-0,02618	-0,02658	-0,02659	-0,02832	-0,02809
5	-0,03879	-0,03672	-0,03671	-0,03817	-0,03869
6	-0,03671	-0,03489	-0,03484	-0,03524	-0,03778
7	-0,03605	-0,03524	-0,03642	-0,03641	-0,03651
8	-0,03875	-0,03440	-0,03687	-0,03374	-0,03658
9	-0,04469	-0,03771	-0,03785	-0,04043	-0,04180
10	-0,02308	-0,03279	-0,03241	-0,03077	-0,03120
ME_{mean} (µg/L)	-0,03563	-0,03561	-0,03578	-0,03584	-0,03651
SD	0,00779	0,00423	0,00429	0,00487	0,00534
SE	0,00246	0,00134	0,00136	0,00154	0,00169
95% CI	0,00483	0,00262	0,00266	0,00302	0,00331
95% CI min.	-0,04046	-0,03823	-0,03844	-0,03886	-0,03982
95% CI max.	-0,03080	-0,03299	-0,03312	-0,03283	-0,03320

Tabell 18: Oversikt over MSE for hver undergruppe med forskjellige innhold av individuell predikerte konsentrasjoner, mean, SD, SE og 95% CI.

Undergrupper	Alle kons.	Ingen kons.	C₀	C₀ + C₁	C₀+C₁+C₃
1	0,63501	0,61837	0,61215	0,60633	0,60092
2	0,61630	0,63337	0,62710	0,62142	0,61709
3	0,57724	0,55707	0,55170	0,54836	0,55192
4	0,51842	0,45874	0,45407	0,45042	0,44715
5	0,57022	0,60652	0,60051	0,59534	0,59090
6	0,51903	0,52285	0,51766	0,51277	0,52219
7	0,54967	0,58921	0,58605	0,58033	0,57659
8	0,59554	0,61882	0,61425	0,61150	0,61238
9	0,52720	0,52529	0,52021	0,51742	0,52865
10	0,53328	0,44822	0,44362	0,44065	0,43873
MSE_{mean} (µg/L)²	0,56419	0,55785	0,55273	0,54846	0,54865
SD	0,04162	0,06713	0,06681	0,06611	0,06458
SE	0,01316	0,02123	0,02113	0,02090	0,02042
95% CI	0,02580	0,04161	0,04141	0,04097	0,04003
95% CI min.	0,53840	0,51624	0,51133	0,50748	0,50862
95% CI max.	0,58999	0,59946	0,59414	0,58943	0,58868

Tabell 19: Oversikt over RMSE for hver undergruppe med forskjellige innhold av individuell predikerte konsentrasjoner, mean, SD, SE og 95% CI.

Undergrupper	Alle kons.	Ingen kons.	C₀	C₀ + C₁	C₀+C₁+C₃
1	0,54999	0,53789	0,53290	0,52910	0,52579
2	0,54571	0,54632	0,54114	0,53783	0,53678
3	0,51951	0,51906	0,51507	0,51334	0,51763
4	0,49951	0,47108	0,46656	0,46417	0,46237
5	0,53190	0,55736	0,55217	0,54865	0,54632
6	0,50392	0,49840	0,49374	0,48997	0,49605
7	0,52046	0,54128	0,53781	0,53347	0,53340
8	0,54114	0,54241	0,53983	0,54021	0,54358
9	0,50731	0,50238	0,49799	0,49697	0,50646
10	0,50482	0,48507	0,48021	0,47906	0,47817
RMSE_{alle} (µg/L)	0,52243	0,52013	0,51574	0,51328	0,51465
SD	0,01874	0,02935	0,02947	0,02912	0,02846
SE	0,00592	0,00928	0,00932	0,00921	0,00900
95% CI	0,01161	0,01819	0,01826	0,01805	0,01764
95% CI min.	0,51081	0,50193	0,49748	0,49523	0,49701
95% CI max.	0,53404	0,53832	0,53400	0,53132	0,53230

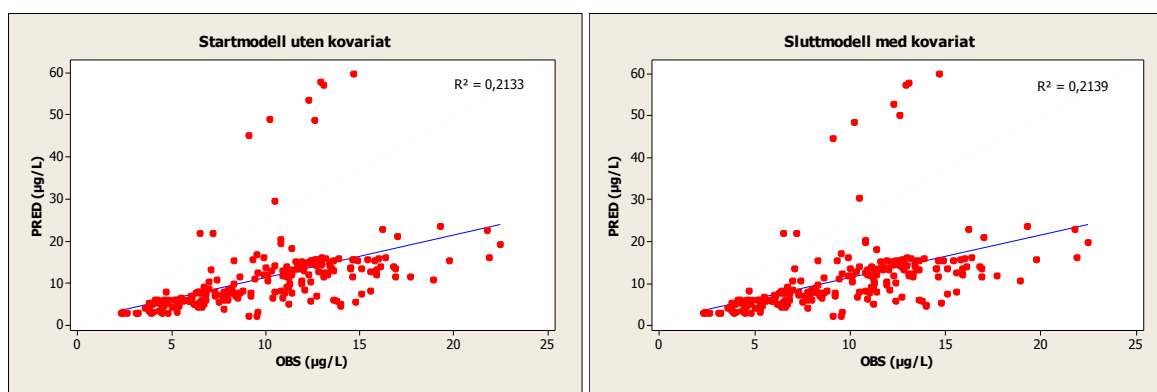
Tabell 20: Oversikt over RMSE for hver undergruppe med forskjellige innhold av individuell predikerte konsentrasjoner, mean, SD, SE og 95% CI.

Undergrupper	Alle kons.	Ingen kons.	C₀	C₀ + C₁	C₀+C₁+C₃
1	0,01091	0,01039	0,01038	0,01072	0,01082
2	0,01041	0,00996	0,00991	0,01012	0,01019
3	0,00648	0,00859	0,00821	0,00759	0,00718
4	0,00644	0,00661	0,00661	0,00703	0,00697
5	0,00960	0,00889	0,00886	0,00926	0,00939
6	0,00906	0,00845	0,00842	0,00855	0,00918
7	0,00891	0,00871	0,00893	0,00894	0,00900
8	0,00961	0,00838	0,00898	0,00825	0,00896
9	0,01105	0,01013	0,01018	0,01063	0,01089
10	0,00567	0,00813	0,00799	0,00760	0,00772
SPE_{alle} (µg/L)	0,00881	0,00882	0,00885	0,00887	0,00903
SD	0,00195	0,00112	0,00114	0,00131	0,00140
SE	0,00062	0,00035	0,00036	0,00041	0,00044
95% CI	0,00121	0,00069	0,00071	0,00081	0,00087
95% CI min.	0,00760	0,00813	0,00814	0,00806	0,00817
95% CI max.	0,01002	0,00952	0,00955	0,00968	0,00990

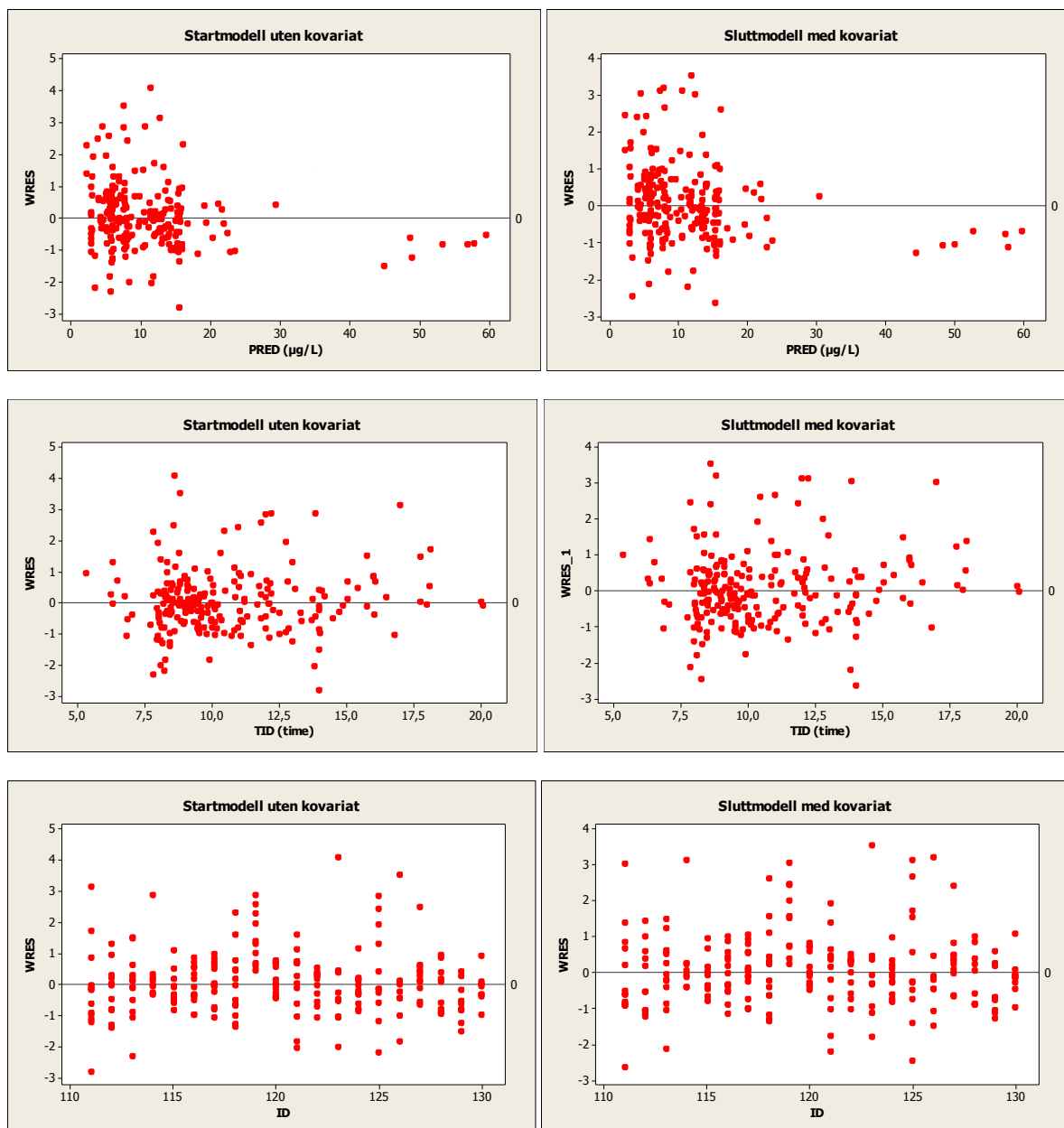
Tabell 21: Oversikt over SD av SPE for hver undergruppe med innhold forskjellige individuell predikerte konsentrasjoner.

Undergrupper	Alle	Ingen	C ₀	C ₀ + C ₁	C ₀ +C ₁ +C ₃
1	0,1979461	0,194037	0,1928722	0,192965	0,191287
2	0,1953715	0,197784	0,1965907	0,196149	0,195404
3	0,1876935	0,180809	0,1796926	0,17968	0,180834
4	0,1774989	0,168699	0,1677978	0,166883	0,166209
5	0,1870791	0,188887	0,18739	0,187423	0,186822
6	0,177949	0,175326	0,1740707	0,174017	0,175791
7	0,1833647	0,18993	0,1879525	0,18733	0,187514
8	0,1915144	0,191823	0,1911734	0,19148	0,192059
9	0,1795653	0,194802	0,1942824	0,189385	0,189628
10	0,1798809	0,166244	0,1643877	0,16413	0,16414
SD SPE_{alle}, mean	0,1857863	0,184834	0,183621	0,182944	0,182969

7.6 GOF PLOTTER



Figur 5: GOF plotter av populasjonspredikert (PRED) vs. observert konsentrasjon (OBS) i start- og sluttmodell.



Figur 6: Plotter av WRES (weighted residual) vs. populasjonspredikert konsentrasjon, TID og pasient ID i start- og sluttmodellen.